ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974

N° 95

RECHERCHES SUR L'APPARITION ET LE DEVELOPPEMENT de CANDIDA ALBICANS CHEZ LE CHIEN TRAITÉ AUX ANTIBIOTIQUES ANTIBACTERIENS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

présentée et soutenue publiquement en 1974
devant l'Université Paul-Sabatier

PAR

UYTTEWAAL Mary-Nelly

née le 22 Mai 1949 à Bordeaux

Membres du Jury :

Président M. LARROUY, Prof. à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

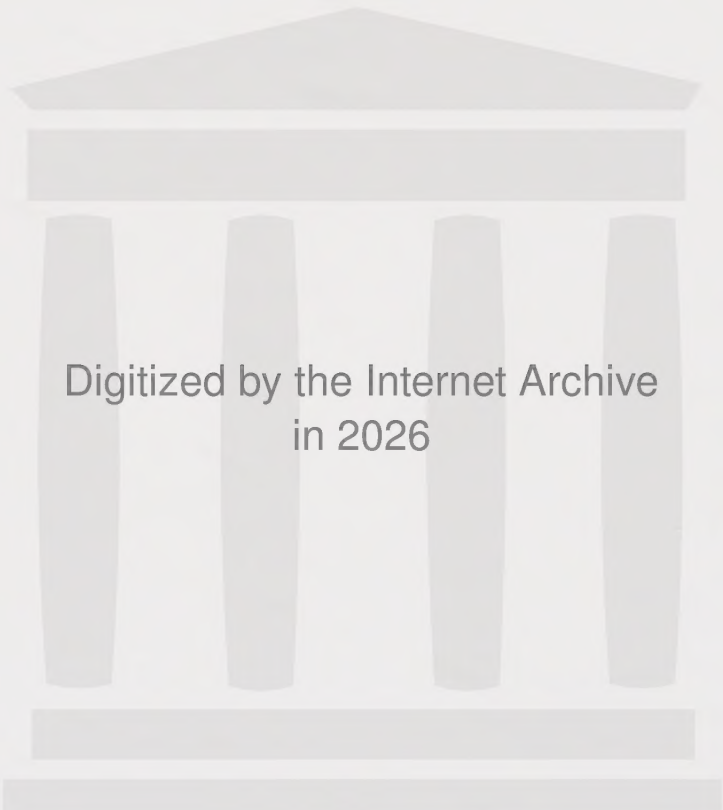
Assesseurs M. BRIZARD, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. SAURAT, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

IMPRIMERIE MODERNE

22, rue Sainte-Ursule

TOULOUSE

1974


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549604_0058

RECHERCHES SUR L'APPARITION ET LE DEVELOPPEMENT de CANDIDA ALBICANS CHEZ LE CHIEN TRAITÉ AUX ANTIBIOTIQUES ANTIBACTERIENS

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974

N° 95

RECHERCHES SUR L'APPARITION ET LE DEVELOPPEMENT de CANDIDA ALBICANS CHEZ LE CHIEN TRAITÉ AUX ANTIBIOTIQUES ANTIBACTERIENS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Diplôme d'Etat

présentée et soutenue publiquement en 1974
devant l'Université Paul-Sabatier

PAR

UYTTEWAAL Mary-Nelly

née le 22 Mai 1949 à Bordeaux

Membres du Jury :

Président M. LARROUY, Prof. à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. BRIZARD, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. SAURAT, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

IMPRIMERIE MODERNE

22, rue Sainte-Ursule

TOULOUSE

1974

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR . . . . . MM. LAUTIE
DIRECTEURS HONORAIRES . . . . . PONS, DARRASPEN, FLORIO
PROFESSEUR HONORAIRE . . . . . LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie.
Professeur titulaire..... M. **Godfrain**
Maître-Assistant agrégé..... Mme **Burgat-Sacaze**
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales.
Professeur titulaire..... M. **Rico**
Maître-Assistant. . . .. M. **Braun**
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
Professeur titulaire..... M. **Pavaux**
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique.
Professeur titulaire..... MM. **Ruckebusch**
Maître de Conférences, non Chef de Service..... **Fargeas**
Maître-Assistant. . . .. **Toutain**
Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.
Professeur titulaire..... MM. **Van Haverbeke**
Professeur sans Chaire..... **Cabanié**
Maître-Assistant. . . .. **Magnol**
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.
Professeur titulaire..... MM. **Labie**
Maître-Assistant. . . .. **Eeckhoutte**
Maître-Assistant. . . .. Mme **Benard**
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires.
Professeur titulaire..... MM. **Brizard**
Maître de Conférences, non Chef de Service..... **Dorchies**
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.
Professeur titulaire..... MM. **Florio**
Professeur sans Chaire..... **Lescure**
Maître-Assistant. . . .. **Guelfi**
Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
Professeur titulaire..... MM. **Tournut**
Professeur sans Chaire..... **Espinasse**
Maître-Assistant. . . .. **Bézille**
Séméiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour - Clinique Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.
Professeur titulaire..... MM. **Cazieux**
Maître-Assistant. . . .. **Dickelé**
Maître-Assistant. . . .. **Genevois**
Propédeutique et Séméiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
Professeur titulaire..... MM. **Berthelon**
Professeur sans Chaire..... **Royal**
Maître-Assistant. . . .. **Tainturier**
Séméiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses Législation Sanitaire.
Professeur titulaire..... MM. **Saurat**
Maître de Conférences, non Chef de Service..... **Chantal**
Maître-Assistant. . . .. M. **Ganière**
Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie Immunologie.
Professeur titulaire..... MM. **Lautié**
Maître-Assistant. . . .. **Meignier**
Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale.
Professeur titulaire..... MM. **Queinnec**
Maître-Assistant. . . .. **Darre**
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage
Economie générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.
Professeur titulaire..... MM. **Faliu**
Professeur sans chaire..... **Griess**
Maître-Assistant. . . .. **Paragon**
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses . . . . . MM. **Monnier**
Aspect médical des Zoonoses . . . . . **Armengaud**
Energétique . . . . . **Labouche**
Initiation à l'Informatique Biomédicale . . . . . **Fernet**
Agronomie . . . . . **Combret**
Métabolisme . . . . . **Raynaud**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats : (Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

UNIV. LEIDEN BIBL.

A MES PARENTS

En témoignage de mon profond amour et de toute ma reconnaissance.

Qu'ils trouvent ici la modeste récompense de leur aide et de leurs efforts.

A ANDRÉ

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS ET PROCHES

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR LARROUY

de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Qui a bien voulu nous faire l'honneur
de présider notre Jury de Thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRIZARD

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Dont les précieux conseils nous ont permis de mener à bien ce travail.

Qu'il trouve ici l'assurance de notre reconnaissance et de notre profond respect.

MONSIEUR LE PROFESSEUR SAURAT

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Puissiez-vous trouver exprimée notre profonde reconnaissance pour la bienveillance et l'intérêt que vous nous avez témoignés durant nos études et notre année d'assistanat.

Hommages respectueux.

A MONSIEUR
LE MAITRE DE CONFÉRENCES DORCHIES

Qu'il me soit permis de vous remercier pour votre accueil et pour les conseils éclairés dont nous avons pu profiter à vos côtés.

A MADAME DELORME

Avec tous nos remerciements pour son extrême amabilité.

A TOUTES LES PERSONNES
DES SERVICES DE MALADIES CONTAGIEUSES
ET DE PARASITOLOGIE

En remerciements de toute la gentillesse et le dévouement offerts pour la réalisation de ce travail.

A NOS MAITRES
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE
ET DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

En hommage à leur enseignement dévoué.

INTRODUCTION

Il est bien connu que les antibiotiques antibactériens sont capables de modifier plus ou moins profondément la flore intestinale.

Depuis leur introduction en thérapeutique, la fréquence et la gravité des infections à Candida se sont accrues considérablement.

Les Candida sont des agents potentiellement pathogènes en fonction uniquement des conditions du terrain.

Le pouvoir pathogène de Candida albicans *pour l'Homme et l'Animal est hors de doute.*

D'autres espèces peuvent dans certaines conditions être éventuellement pathogènes, comme C. tropicalis, C. pseudo-tropicalis, C. parakrusei, C. guillermondi, *tandis que les autres ne le sont pas.*

Les thérapeutiques modernes agressives pour l'organisme donnent l'occasion à ces champignons « opportunistes » que sont les Candida, de devenir pathogènes.

C'est la raison pour laquelle il nous a paru opportun de faire une recherche sur l'apparition et le développement de Candida albicans *chez le chien traité aux antibiotiques antibactériens.*

Dans une première partie, nous avons rappelé la position systématique des Candida et mentionné quelques-uns de leurs caractères généraux.

Nous avons évoqué ensuite les conditions d'apparition de candidoses ainsi que leurs aspects cliniques et anatomo-pathologiques.

Nous avons insisté sur le diagnostic de laboratoire qui est très important en Médecine vétérinaire car les symptômes et les lésions sont très frustes.

Dans la deuxième partie, nous avons indiqué les techniques retenues pour notre expérimentation avant d'expliquer le choix de nos animaux d'expérience. Nous avons recherché l'apparition et le développement de Candida albicans *chez les chiens traités aux antibiotiques antibactériens et parallèlement sur des chiens témoins non soumis à cette thérapeutique.*

Ces observations relevées, nous avons essayé d'interpréter les résultats dans une troisième partie pour finalement présenter dans une conclusion le résumé synthétique de notre travail.

Nous devons mentionner que nous avons beaucoup emprunté à l'ouvrage de M. Euzéby *pour la rédaction des première et deuxième parties.*

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS - BIOLOGIE DES CANDIDA - LES CANDIDOSES

CHAPITRE PREMIER

DÉFINITIONS ET POSITION SYSTÉMATIQUE DES CANDIDA

Définition

Les Candida font partie du groupe artificiel des levures, champignons se multipliant par bourgeonnement de cellules isolées. Les champignons appartiennent à l'embranchement des Thallophytes, dont ils constituent un sous-embranchement. Les Thallophytes sont des végétaux inférieurs, caractérisés par leur appareil végétatif rudimentaire, dépourvu de vaisseaux ligneux et de liber, ne possédant ni racines, ni tiges, ni feuilles et ne produisant ni fleurs, ni graines.

Dans cet embranchement, le sous-embranchement des champignons ou Mycètes, se situe à côté de celui des bactéries ou Schizomycètes. les uns et les autres étant dépourvus de chlorophylle: thallophytes achlorophylliens. Ils s'opposent, par ce caractère négatif, aux algues,

thallophytes chlorophylliens. L'absence de chlorophylle ne représente pas, pour les Mycètes et les Schizomycètes, un simple caractère structural, mais elle entraîne des conséquences d'ordre biologique : elle rend, en effet, ces végétaux inaptes à l'assimilation chlorophyllienne et, par là, hétérotrophes pour le carbone et incapables de synthétiser leurs glucides.

Bactéries et champignons sont donc dans l'obligation de mener une vie saprophytique ou, même, parasitaire. Beaucoup d'espèces saprophytes peuvent d'ailleurs être des parasites facultatifs ou accidentels et certains parasites obligatoires dérivent d'espèces saprophytes, qui se sont adaptées à la vie parasitaire.

Au sein du groupe des thallophytes non chlorophylliens, les champignons se définissent par les caractères suivants :

— végétaux unicellulaires ou pluricellulaires;

— le plus souvent filamenteux, et ce caractère constitue un état normal de l'individu et non une forme d'involution. Les filaments, le plus souvent de type plasmodial, sont tubuliformes, cloisonnés ou continus;

— paroi de nature glucidique et de structure cellulopectique, pouvant aussi renfermer une hétéroprotéine soufrée, la kératine;

— cytoplasme renfermant un vacuome et un chondriome;

— noyau de type eucaryote: à membrane nucléaire et à chromosomes toujours bien visibles et se multipliant par mitoses typiques.

Classification générale des champignons

Nous donnerons les bases de la classification générale des champignons, avant de préciser la position systématique des Candida.

Le sous-embranchement des champignons renferme sept classes, dont six bien individualisées par leurs formes de reproduction sexuée, tandis que la septième, dont on ne connaît pas les spores méiotiques, a des caractères beaucoup moins précis.

Les six premières classes sont rassemblées en trois groupes, dont les caractères distinctifs sont essentiellement basés sur :

— l'aspect du thalle,

— l'existence ou l'absence de spores méiotiques,

— l'aptitude ou l'incapacité des formes de multiplication et de reproduction (spores et gamètes) à se mouvoir. On désigne sous l'appellation de zoïdes ceux de ces éléments capables de mouvements : soit parce qu'amiboïdes, soit en raison de la possession de flagelles. Sur ces bases, le sous-embranchement des champignons est démembré comme suit :

A) Champignons à thalle plasmodial, amiboïde
= *Myxomycètes.*

B) Champignons à thalle filamenteux et à filaments non cloisonnés (= siphons) :

1) thalle finement tubuleux, des zoïdes amiboïdes = *Trichomycètes*;

2) thalle à siphons plus ou moins larges à zoïdes flagellés ou sans zoïdes :

a) des zoïdes flagellés = *Phycomycètes*;

b) pas de zoïdes = *Zygomycètes.*

C) Champignons à thalle filamenteux et à filaments septés (= hyphes) :

1) des spores méiotiques, fécondation aboutissant à la formation d'un appareil sporophytique producteur :

a) d'asques et d'ascospores = *Ascomycètes*;

b) de basides et de basidiospores = *Basidiomycètes.*

2) Champignons à spores méiotiques non connues et ne se multipliant que par spores directes imparfaites = *Hyphomycètes.*

Position systématique des Candida dans la classe des Hyphomycètes

Les Hyphomycètes, encore appelés Adelomycètes, Deuteromycètes, Fungi Imperfecti, sont des champignons uniquement connus sous la forme de :

— filaments mycéliens végétatifs,

— et de spores imparfaites, résultant d'un processus de multiplication asexuée, à formes sexuées inconnues.

On peut reconnaître dans la classe des Hyphomycètes deux subdivisions :

— Thallosporina : multiplication asexuée par thallospores;

— Conidiosporina: multiplication asexuée par conidiospores.

La subdivision Thallosporina renferme l'ordre des Thallosporales avec trois super-familles :

— Famille des Blastosporacées: à thallospores de type blastospore;

— Famille des Arthrosporacées: à thallospores de type arthrospore;

— Famille des Aleuriosporacées: à thallospores de type aleuriospore.

Les Blastosporacées sont des Hyphomycètes caractérisés par leur multiplication asexuée s'effectuant par le moyen de blastospores ou levures.

Les Blastosporacées ne sont pas les seuls champignons producteurs de levures, elles s'inscrivent dans un grand groupe de champignons ayant cette même faculté et qu'on dénomme champignons levuriformes, ou Blastomycètes.

En réalité, ce groupe est très artificiel et très hétérogène, seule la présence de levures constitue un lien.

Les Blastosporacées pathogènes sont les agents de mycoses dénommées par R. Van Breuseghem sous l'appellation de levuroses.

Ces levures pathogènes sont toutes incluses dans une seule famille, celle des *Cryptococcacées* ou *Torulopsidacées*. Cette famille est démembrée en trois sous-familles importantes :

1°) La sous-famille des *Cryptococcoïdeæ* dont les genres d'intérêt médical sont les suivants :

a) genre *Candida* : levures produisant du pseudo ou du vrai mycélium, portant des verticilles réguliers de blastospores, il existe de très nombreuses espèces;

b) genre *Cryptococcus* : levures non filamenteuses, à bourgeonnement multiple, entourées d'une capsule polysaccharidique, ne fermentant pas les sucres et possédant une uréase;

c) genre *Torulopsis* : levures non filamenteuses, à bourgeonnement multiple, ne produisant pas de capsule et ne possédant pas d'uréase;

d) genre *Pityrosporum* : levures lipophiles, à bourgeonnement polaire, de forme ovale ou en bouteille, ne fermentant pas les sucres.

2°) La sous-famille des *Trichosporoïdeæ* : levures donnant des filaments se fragmentant en arthrospores bourgeonnantes.

3°) La sous-famille des *Rhodotoruloïdeæ* avec le genre *Rhodotorula* caractérisé par des levures à pigment caroténoïde rouge, habituellement saprophytes.

Les noms *Oidium* et *Monilia* donnés autrefois aux champignons du genre *Candida* ou à certaines espèces de ce genre (*Oidium albicans*, Robin, 1853 ; *Monilia albicans*, Zopf, 1890) doivent être proscrits ; les noms d'Oidium et de Monilia désignaient depuis très longtemps déjà d'autres genres différents. En revanche, le nom de Candida donné par Berkhout en 1923 et soutenu avec enthousiasme par Langeron, a été adopté par le Troisième Congrès international de Microbiologie de New-York et reste admis par tous les mycologues actuellement.

Les Candida appartenant à la classe des Hyphomycètes sont très proches des Ascomycètes par certains de leurs organes végétatifs et de leur appareil sporifère : ce sont des Ascomycètes imparfaits.

Il est d'ailleurs probable que les progrès de la mycologie, amenant la découverte de formes sexuées chez ces champignons qui en paraissent dépourvus, conduiront à la réduction progressive de la classe des Hyphomycètes.

Embranchement	*Sous-embranchement*	*Classes*	*Subdivision*	*Ordre*	*Super familles*	*Familles*	*Sous-familles*	*Genres*
	Bactéries							
		Myxomycètes						
Thallophytes	Algues	Trichomycètes						Candida
		Phycomycètes			Blastosporacées	Cryptococcacées	Cryptococcoideæ	Cryptococcus
	Champignons	Zygomycètes				ou		Torulopsis
		Ascomycètes						Pityrosporum
		Basidiomycètes	Thallosporina	Thallosporales	Arthrosporacées	Torulopsidacées	Trichospororoideæ	
		Hyphomycètes						
					Aleuriosporacées		Rhodotoruloideæ	
			Conidiosporina					

Position systématique des Candida

CHAPITRE DEUXIÈME

ÉTUDE GÉNÉRALE DES CANDIDA

Les Candida sont capables de se développer soit sur la peau et les muqueuses (Candidoses superficielles), soit dans les tissus profonds (Candidoses profondes).

Ces levures sont essentiellement caractérisées par leur aptitude à demeurer alignées les unes à la suite des autres pour former un pseudomycélium : ce sont des levures filamenteuses.

Nous étudierons dans ce chapitre les caractères morphologiques, les caractères physiologiques et les caractères antigéniques.

I. Caractères morphologiques

Nous envisagerons ceux-ci successivement dans les lésions et dans les cultures.

A) *Dans les lésions*

On peut observer trois types morphologiques :

1°) des levures isolées, arrondies ou ovalaires, de 2 à 4 μ et jusqu'à 5 à 7 μ dans leur grand axe, à paroi mince, non encapsulées et facilement reconnaissables par la présence d'un bourgeonnement polaire [8] ;

2°) des formes pseudomycéliennes, constituées de courtes chaînettes de 3 à 10 levures alignées bout à bout et présentant des formes de bourgeonnement terminales

ou latérales; dans ce dernier cas, on peut observer une ramification (rare en lésions).

La présence de ces pseudofilaments est intéressante à noter pour deux raisons; ils sont très caractéristiques, du moins par leur abondance, d'une espèce: *Candida albicans* et ils signent une activité particulièrement élevée du parasite;

3°) des formes mycéliennes vraies, résultant de l'allongement d'une levure isolée, qui devient une hyphe pouvant atteindre une longueur de 100 à 120 μ. Ces formes filamenteuses vraies caractérisent aussi l'espèce *C. albicans* et sont observables dans les formes graves des candidoses dues à cette espèce.

Le déterminisme de la formation de ces filaments réside dans l'inhibition de l'enzyme qui régit la multiplication cellulaire, une disulfure réductase, qui réduit les ponts disulfure -S-S- des protéines à l'état de sulfhydryles -SH.

La multiplication est alors interrompue, tandis que la croissance de la cellule se poursuit.

B) *Dans les cultures*

En fonction des milieux utilisés, on peut observer :

1°) *Macroscopiquement :*

— Sur les milieux solides : les Candida forment en 48 heures des colonies blanches, humides, luisantes, d'aspect crémeux, à surface bombée et des filaments peuvent pousser dans la profondeur du substrat. Si l'ensemencement est fait en strie, la poussée des filaments s'observe de part et d'autre de la strie.

— Sur milieux liquides: le développement s'accomplit dans la masse et les colonies forment un louche dans les tubes. De plus, il peut se développer, en surface, une

nappe plus ou moins épaisse, formant un voile. Ce voile est qualifié de :

- membraneux : lorsqu'il est épais et continu;
- aéré : lorsqu'il est plus mince et discontinu;
- annelé : lorsqu'il est très mince, pelliculaire.

Lorsqu'aucun voile n'est visible à la surface du liquide, c'est que la nappe superficielle s'est fragmentée et est tombée dans le fond du tube, où se dépose, alors, un sédiment [11].

2°) *Microscopiquement :*

L'on observe dans tous les cas :

1) des levures isolées, semblables à celles décrites dans les lésions;

2) des pseudofilaments, analogues à ceux des lésions, mais plus souvent ramifiés et portant aussi en divers points d'union des levures successives, des bouquets de blastospores. Ces pseudofilaments sont tout particulièrement caractéristiques de *Candida albicans*, mais d'autres espèces peuvent aussi en produire, *C. tropicalis*, notamment :

— en milieu solide: des colonies crémeuses deviennent sèches membraneuses : les colonies crémeuses sont qualifiées de phase S (Smooth) et les colonies sèches membraneuses constituent la phase R (Rough). Dans les colonies R, les formes pseudomycéliennes sont plus nombreuses;

— en milieu liquide: les formes S ne forment qu'un anneau discret, les formes R produisent un voile.

Au laboratoire, la conservation des souches de Candida est facile. On peut effectuer des repiquages tous les six mois sur gélose Sabouraud glucosé ou bien on peut employer la méthode de Castellani. On ensemence un fragment de colonies dans un tube d'eau distillée stérile

Espèces	*Eumycelium*	*Filamentation* 4 h à 37°C sans sérum	*Chlamydospores sur P.C.B.*	*Anneau en milieu liquide*	*Voile en milieu liquide*
C. albicans	+	+	+	0	0
C. stellatoïdea	±	±	0	0	0
C. tropicalis	0	0	0	+	+
C. pseudotropicalis	0	0	0	±	0
C. krusei	0	0	0	±	±
C. parakrusei	0	0	0	+	±
C. guillermondi	0	0	0	+	±
C. zeylanoïdes	0	0	0	+	0

Caractères morphologiques de quelques espèces de Candida (d'après E. DROUHET)

(10 à 15 ml). L'entretien du tube en milieu sombre et à la température du laboratoire permet de conserver les cultures pendant une année.

Pour caractériser *Candida albicans* il faut repiquer les cultures provenant des milieux d'isolement sur des milieux spéciaux capables de révéler tel ou tel caractère du Candida à étudier :

α) Milieux propres à la formation de chlamydospores (caractéristique de *C. albicans*).

Depuis longtemps, des essais ont été entrepris par différents auteurs pour obtenir rapidement des caractères morphologiques du genre Candida et de l'espèce *Candida albicans* : pseudomycélium et chlamydospores.

Talice (1930) [40] a proposé l'infusion de pomme de terre (20 à 30 %) et Benham (1931) le « Corn meal agar » pour la production de pseudomycélium. Langeron et Guerra [18] ont trouvé que, d'une part, la carotte ajoutée au milieu de Talice et, d'autre part, l'atmosphère CO_2, étaient favorables. Cependant, la production de chlamydospores était très capricieuse suivant les souches.

Nickerson et Mankowski (1953) [28] trouvent que deux polyosides, le glycogène, produit coûteux, et l'amidon soluble, sont favorables à la production de chlamydospores.

Mais ce dernier contient souvent des quantités considérables de glucose, inhibiteur de la formation des chlamydospores. La purification de l'amidon par précipitation au sulfate d'ammonium demi-saturé est une opération longue et difficile.

Weld (1953) recommande l'emploi du milieu de Levine sous atmosphère de 10 % de CO_2. Drouhet et

Couteau (1954) [9] ont utilisé la méthode de Weld en simplifiant le milieu de Lévine.

Sur ce milieu en 48 h, toutes les souches de *Candida albicans* produisent un pseudomycélium et par repiquage sur le milieu pomme de terre-carotte à 25°C, ils obtiennent des chlamydospores en 2 à 4 jours.

Mais, même dans les conditions les plus favorables, il faut attendre au moins 4 jours pour obtenir des chlamydospores. Cette méthode, qui est efficace, est cependant d'un emploi assez difficile et exige un temps relativement long pour la détermination de l'espèce.

Pavlatou et Marcelou (1956) [30], au Laboratoire de bactériologie de l'hôpital « Alexandra » à Athènes, ont remarqué, après divers essais de milieux, que le milieu P.C. (pomme de terre, carotte) additionné de bile de bœuf (20 %) permettait en 24 h d'obtenir un pseudomycélium et des chlamydospores.

Ce milieu P.C.B. (pomme de terre-carotte-bile) est de loin le plus utilisé car c'est une méthode simple, fidèle, et efficace.

D'autres substrats peuvent être utilisés :

— le milieu gélosé à la farine de maïs;

— le milieu de Taschdjian : gélose à la crème de riz ou milieu « Rice Cream ».

L'ensemencement sur ces milieux est effectué en sinusoïde profonde. L'incubation est faite à 25°C pendant 24-48 h.

Entre lame et lamelle, on écrase un petit fragment de gélose et on regarde au microscope. On observe des pseudofilaments et des chlamydospores terminables ou

latérales, globuleuses, de 8 à 12 μ de diamètre, à paroi épaisse et se révélant, par coloration, acidophiles et acido-résistantes.

Ces éléments ne se développent qu'en milieux pauvres en azote (P.C.B.) et sont caractéristiques de l'espèce *Candida albicans* et de sa variété *C. stellatoïdea*. D'autres espèces peuvent en présenter, *C. tropicalis*, *C. pseudo-tropicalis*, *C. guillermondi*, mais il n'en demeure pas moins vrai que jamais ces espèces ne forment des chlamydospores d'une façon aussi régulière et aussi copieuse que *C. albicans*.

Si *Candida albicans* donne des chlamydospores en 24-48 h, certaines souches sont plus tardives, d'autres n'en donnent pas. Ces dernières, comme *C. albicans*, ont produit des filaments en sérum (cf. infra).

Il est vraisemblable qu'il s'agit de souche de *C. albicans* sans chlamydospores [47] comme l'ont signalé Brown-Thomsen et Saëz.

β) Milieux riches, favorables à la filamentation des blastospores : test de Taschdjian.

Le processus de filamentation consiste en l'émission par les formes levures, de « tubes germinatifs ». Ce processus évoque celui de la formation des filaments mycéliens, observables in vivo, mais les tubes germinatifs sont plus courts : 20 à 30 μ.

Ces tubes germinatifs peuvent se former dans du sérum, 1 goutte de culture est déposée dans 0,5 ml de sérum, en tube ou sur lame [41].

Le milieu est incubé à 37°C pendant 2 à 4 heures, il se développe, en cas de filamentation, une excroissance

cylindrique, filiforme, à partir des blastospores ensemencées. Cette filamentation est caractéristique de l'espèce *C. albicans*.

On l'obtient en utilisant divers sérums : homme, chien, cobaye, lapin, cheval, bœuf. Ces sérums peuvent être frais ou inactivés, mais ne doivent pas être fournis par des sujets traités à la nystatine ou à l'amphotéricine B.

L'inoculum ne doit pas être trop important : au-delà de 10 000 000 de levures par ml, le taux de filamentation diminue.

On peut remplacer le sérum par du blanc d'œuf et R. Van Breuseghem a aussi utilisé, avec succès, du milieu de Sabouraud liquide. Mais le sérum donne les meilleurs résultats. Ce test de filamentation ou test de Mockensie ou test de Taschdjian permet une identification rapide de *C. albicans*. Il faut noter que des filamentations ont été signalées avec des souches de *C. rugosa* et *C. utilis*, très rares.

Les caractères morphologiques envisagés dans ce paragraphe ne permettent pas de diagnostiquer toutes les espèces du genre Candida. Aussi, nous envisagerons maintenant les caractères physiologiques.

II. Caractères physiologiques

Si les levures isolées ne donnent pas de chlamydospores sur milieu P.C.B. ou ne filamentent pas dans le sérum, on utilise simultanément les tests suivants, dont les résultats sont obtenus rapidement et permettent d'identifier les espèces autres que *C. albicans*.

Nous envisagerons l'auxanogramme, la fermentation des sucres, la sensibilité à l'actidione, la réduction du tétrazolium, et l'hydrolyse de l'urée et de l'arbutine.

A) *Auxanogramme*

Nous savons que l'auxanographie est l'étude des facteurs de croissance et de la capacité pour un champignon d'utiliser telle source d'azote ou de carbone ou tel facteur vitaminique. Les résultats des épreuves auxanographiques sont consignés dans un auxanogramme [11].

L'auxanographie est étudiée par un procédé semblable à celui utilisé pour l'établissement des antibiogrammes.

Des disques de papier Joseph de 5 mm de diamètre sont imprégnés, selon le caractère recherché :

— d'une source de carbone: solution d'un sucre donné (20 %),

— ou d'une source d'azote : solution d'un sel nitré : sulfate neutre d'ammonium ou nitrate d'ammonium (10 %),

— ou d'une préparation vitaminique (titre variable selon la vitamine étudiée, mais toujours très faible : de 10^{-5} à 10^{-9} %).

L'épreuve est alors réalisée en boîte de Pétri, selon le processus ci-dessous indiqué :

1) dépôt dans le fond d'une boîte de Pétri de 2 ml d'une suspension de la levure à étudier, provenant du milieu sur lequel elle a été isolée et âgée de 48 heures;

2) addition de 20 ml d'une gélose nutritive de base, exempte, selon la recherche prévue :

- de sucre : pour l'étude de l'assimilation du carbone de tel ou tel sucre;
- d'azote : pour l'étude de l'assimilation de l'azote de telle ou telle source;
- ou de vitamines : pour l'étude des besoins en telle ou telle vitamine.

Ce milieu est chauffé à 45°C pour pouvoir être coulé dans la boîte de Pétri;

3) après solidification du substrat, dessiccation de la surface du milieu par évaporation à l'étuve à 37°C;

4) après dessiccation : mise en place des disques préparés qui ne doivent être déposés que sur une surface très sèche;

5) incubation à 25°C.

La lecture est faite après 48 heures d'incubation :

— si une culture s'est développée autour des disques, c'est que la substance dont ceux-ci avaient été imprégnés est assimilable par la levure étudiée et constitue pour celle-ci un facteur de croissance;

— dans le cas contraire, la substance éprouvée ne convient pas au développement de la levure.

Pour l'étude de l'assimilation du carbone des sucres sont testés : le glucose, le galactose, le saccharose, le maltose, le lactose, le raffinose, l'inuline, le D. cellobiose, le D. tréhalose, le D. xylose, le L. arabinose, le D. ribose, le L. rhamnose, l'éthanol, l'érythritol, l'adonitol, le dulcitol, le D. mannitol, le D. sorbitol, l'inositol [23].

Les six premiers sucres sont les plus couramment

utilisés en milieu synthétique de G. Lodder [5] ou bien en milieu Nitrogen base [45].

Pour l'étude de l'assimilation de l'azote, le milieu synthétique glucosé de G. Lodder est recommandé avec des disques de papier Joseph imprégnés de NO_3K [20]. On peut aussi utiliser le milieu carbon base [45].

B) *Fermentation des sucres ou zymogramme*

La fermentation des sucres est un caractère très important et stable et pour son étude un grand nombre de méthodes a été proposé.

Stelling-Dekker, Lodder, Diddens et Lodder, en utilisant des tubes d'Einhorn, n'ont pas obtenu de résultats absolus [38, 22, 6].

Didden et Lodder n'ont pas constaté de différences entre les résultats obtenus avec les tubes d'Einhorn et ceux de Durham.

Toutefois, Bouthilet et coll. ont remarqué que la méthode des tubes de Durham était plus sensible que celle des tubes d'Einhorn pour l'étude du pouvoir fermentatif.

Lodder et Kreger Van Rij [24], bien qu'ils aient utilisé des tubes d'Einhorn, pensent que le procédé est moins sensible que la méthode des tubes de Durham.

Langeron et Guerra proposent une méthode qui consiste à ensemencer la souche à étudier dans un tube contenant de l'eau peptonée et un sucre à étudier.

Le milieu liquide est recouvert d'une couche de paraffine.

Deux autres méthodes introduites plus récemment permettent une identification plus commode :

— Méthode de Drouhet et Couteau (1954) et Drouhet et Vieu (1957) [10].

On utilise des tubes d'Ivan Hall présentant un étranglement à leur tiers inférieur, au-dessus duquel vient se loger une bille de verre, faisant soupape [14].

Le milieu employé est constitué par : 9 cm^3 d'eau peptonée à 1 %, additionnée de l'indicateur d'Andrade (sol. à 0,5 % de fuschine décolorée par la soude) et ajustée à pH 7.2, 7.4; on ajoute enfin 1 cm^3 d'une solution à 20 % du sucre à tester (glucose, saccharose, maltose, lactose, raffinose). Ce procédé est lent, exigeant parfois une incubation de 10-15 jours à 37°C.

Le milieu est rosé à pH 7,2 et vire au rouge à pH < 7.

— Méthode de Marcelou-Kinti (U.) et Vournous (M.) [25].

Le milieu est constitué par de l'eau peptonée à 1 %, gélosée à 0.6 % avec l'indicateur d'Andrade à 1 %. On ajoute avant l'emploi dans le milieu fondu au bain marie à 45°C, 1 cm^3 de sucre à 20 % dans 10 cm^3 de milieu.

Après refroidissement, les tubes sont ensemencés par piqûre avec une culture de 24 h sur gélose Sabouraud glucosée. Les tubes sont incubés à température de 37°C. La lecture se fait en 24 à 48 heures.

On note le virage du milieu au rouge et l'apparition de bulles de gaz dans les tubes qui contenaient les sucres

utilisables par les levures. Cette méthode est plus rapide et donne les mêmes résultats que la précédente.

Dans certains cas, on peut se servir de méthodes plus compliquées et plus précises telles que celles utilisant l'appareil de Warburg.

Capron et Debiock (1960) [14] ont proposé une technique permettant d'étudier simultanément les phénomènes d'assimilation fermentaire en anaérobiose.

Ils ont modifié légèrement les milieux de base. Le milieu est le suivant :

Bactopeptone	4,5 g
Bacto Agar	9 g
Acide paraaminobenzoïque (facultatif)	0,012 g
Bromocrésol pourpre	12 mg
Eau distillée	300 ml

On ajuste à pH 7. On autoclave 20 mn à 120°C. On stérilise 3 ml d'une solution à 20 % de l'un des sucres à tester (glucose, galactose, maltose, saccharose, lactose, raffinose), en filtrant sur bougie Chamberland L 3 ou filtre Seitz.

L'ensemencement se fait au fil de platine par une strie superficielle sur la tranche du milieu et une piqûre centrale dans la gélose jusqu'au fond du tube.

Lecture :

Le zymogramme ou étude de la fermentation des sucres est lu en profondeur et l'auxanogramme en surface, grâce au virage du violet au jaune du bromocrésol pourpre dans chacun des tubes de la galerie correspondante aux six sucres.

La lecture des réactions est possible en 48 heures. L'assimilation des sucres doit être lue précocément pour éviter les erreurs dues à la diffusion rapide en profondeur.

Les résultats permettent d'identifier l'espèce du genre Candida (cf. tableau).

C) *La sensibilité à l'actidione*

La culture levuriforme de 24 heures est ensemencée sur un tube de milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné de 0,5 g ‰ d'actidione (cycloheximide). On note le développement ou l'absence de croissance après un jour d'incubation à 27-30°C ou 37°C pour *C. albicans* [10] ; un développement plus tardif peut avoir lieu pour certaines espèces de levures, mais ce n'est que le résultat de 24 heures qui doit être pris en considération.

D) *La réduction du tétrazolium*

Pagano, Lévin et Trejo (1956) ont montré qu'une différenciation entre les espèces de Candida peut être établie d'après la réduction des sels de tétrazolium incorporés dans un milieu de culture [29].

Comme milieu de routine, ils utilisent le milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné de 0,10 g ‰ de triphényl tétrazolium, produit incorporé avant la stérilisation. L'addition de chloramphénicol (0,5 g ‰) s'est révélée utile afin d'éviter d'éventuelles contaminations bactériennes qui fausseraient les résultats (les bactéries réduisent intensément le tétrazolium).

La pigmentation des colonies levuriformes qui doit être notée après 24-48 heures d'incubation à 27-30°C, peut être pour :

C. albicans : blanche (aspect crémeux) ;
C. tropicalis : rouge violette ;
C. pseudotropicalis : rose ;
C. guillermondi : rouge ;
C. krusei : blanche (aspect mat) ;
C. parakrusei : rose rouge ;
C. zeylanoïdes : blanche.

E) *Hydrolyse de l'urée*
ou épreuve de l'uréase

La possibilité qu'ont certaines levures de sécréter une uréase est appréciée par l'hydrolyse de l'urée. Cette hydrolyse libère du carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu et cette alcalinisation est révélée par le rouge de phénol qui devient rose.

Pour la réalisation de l'épreuve, on utilise une gélose enrichie en peptone, glucose, chlorure de sodium et phosphate monopotassique et renfermant de l'urée et du rouge de phénol [11].

L'incubation est faite à 25°C et la lecture intervient après 48 heures. Si l'épreuve est positive (élaboration d'uréase) le milieu rosit.

F) *Hydrolyse de l'arbutine*
ou épreuve de l'arbutine

Basée sur la capacité de certaines levures d'hydrolyser l'arbutine (β glucoside). Cette hydrolyse, en présence

Espèces	AUXANOGRAMME du Carbone						de l'Azote	
	Glucose	*Maltose*	*Lactose*	*Saccharose*	*Galactose*	*Raffinose*	*Nitrate d'ammonium*	*Sulfate d'ammonium*
C. albicans	+	+	0	+	+	0	0	+
C. stellatoïdea	+	+	0	0	+	0	0	+
C. tropicalis	+	+	0	+	+	0	0	+
C. pseudotropicalis	+	0	+	+	+	+	0	+
C. guillermondi	+	+	0	+	+	+	0	+
C. krusei	+	0	0	0	0	0	0	+
C. parakrusei	+	+	0	+	+	0	0	+
C. zeylanoïdes	+	0	0	0	0	0	0	+
C. pulcherrima	+	+	0	+	+	0	0	+
C. pelliculosa	+	+	0	+	±	±	+	+

Caractères physiologiques de quelques espèces de Candida

Tableau I

(d'après E. Drouhet)

	Caractères fermentaires A = acidité G = gaz					*Réduction du tétrazolium* 24 h	*Sabouraud + actidione* 24 h *croissance+ inhibition 0*	*Hydrolyse de* l'urée	*Hydrolyse de l'arbutine*
	Glucose	*Saccharose*	*Maltose*	*Lactose*	*Raffinose*				
C. albicans	AG	A	AG	0	0	Blanc	+	0	0 ou ±
C. tropicalis	AG	AG	AG	0	0	Rouge-violet	0	+	0 ou ±
C. pseudotropicalis	AG	AG	0	AG	AG	Rose	+	?	+
C. guillermondi	AG	AG	0	0	AG	Rouge	+	?	+
C. krusei	AG	0	0	0	0	Blanc	0	+	0
C. parakrusei	AG	0	0	0	0	Rose-rouge	0	?	?
C. zeylanoïdes	0	0	0	0	0	Blanc	+	?	?

Caractères physiologiques de quelques espèces de Candida

Tableau II

(d'après E. Drouhet)

d'ions ferriques, provoque une coloration noire du milieu. L'épreuve est réalisée en utilisant une gélose nutritive renfermant 5 ‰ d'arbutine et à laquelle on ajoute au moment de l'emploi, 3 gouttes d'une solution à 5 % de chlorure ferrique ($FeCl_3$). Après 3 jours d'incubation à 25°C, la positivité de la réaction se traduit par une coloration noire des stries d'ensemencement.

Parmi les caractères physiologiques étudiés ci-dessus seuls quelques-uns sont utilisés pour le diagnostic rapide des principales espèces habituellement rencontrées.

III. Caractères antigéniques

La structure antigénique est encore peu connue. Cependant, Tsuchiya et coll. [44], utilisant les réactions d'agglutination des Candida par des sérums immuns expérimentaux de lapin contre les principales espèces de Candida, ont pu révéler 7 antigènes thermostables de l'espèce *C. albicans*, dont 6 sont communs à *C. tropicalis*.

Environ 17 antigènes thermostables et plusieurs antigènes thermolabiles ont pu être dénombrés dans le genre Candida et une identification sérologique rapide vient d'être proposée par Tsuchiya et son école.

Basés également sur l'agglutination des levures en présence de sérum hyperimmun, Masenclever et Mitchell distinguent chez *C. albicans* deux groupes antigéniques, un groupe A proche antigéniquement de *C. tropicalis* et un autre groupe B proche de *C. stellatoïdea* [15] ; ces différences sérologiques ne sont pas en rapport avec les caractères pathologiques des souches.

Kaplan et Kauffman, à l'aide de l'immunofluorescence, ont également révélé chez *C. albicans* deux groupes

sérologiquement distincts, dont un similaire à *C. stellatoïdea* et l'autre à *C. tropicalis.*

L'analyse immunoélectrophorétique et l'immunodiffusion dans la gélose ont permis une meilleure caractérisation de la structure antigénique des Candida.

En immunisant des lapins, non pas avec des levures entières représentant surtout des antigènes de « surface », mais avec des antigènes cytoplasmiques ou « somatiques » lyophilisés, Biguet et coll. [2] ont pu révéler par les antisérums homologues un nombre beaucoup plus considérable de fractions antigéniques (48 antigènes) ; *C. albicans* : 16 fractions, *C. stellatoïdea*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoïdes* : 13 fractions, *C. pseudotropicalis* : 12 fractions, *C. krusei* : 11 fractions, *C. macedoniensis* : 10 fractions.

De nombreuses fractions sont communes aux diverses espèces de Candida, mais deux fractions sont spécifiques de *C. albicans* par rapport aux six autres espèces et cinq fractions sont spécifiques de *C. tropicalis.*

Sur le plan antigénique, *C. albicans*, *C. stellatoïdea*, *C. tropicalis* et *C. zeylanoïdes* se distinguent nettement de *C. krusei*, *C. brumptii*, *C. macedoniensis* et *C. pseudotropicalis.*

Les antigènes de surface des Candida sont constitués surtout de polysaccharides (mannanes) [39], tandis que les antigènes cellulaires (somatiques) sont surtout de nature protéique et riches en hexoses [2].

Les nouvelles méthodes immunologiques vont conduire à la préparation d'antigènes et allergènes de grande valeur pour le diagnostic biologique des candidoses.

CHAPITRE TROISIÈME

LES CANDIDOSES

Dans des conditions particulières, les Candida, champignons saprophytes, se développent en abondance dans l'organisme, pénètrent dans les tissus profonds, deviennent pathogènes, déterminant des candidoses. Leur nombre se multiplie alors, et ils deviennent souvent décelables à l'examen direct.

C'est essentiellement *Candida albicans* qui est responsable de la plupart des manifestations pathologiques des candidoses.

Nous étudierons successivement les conditions d'apparition, les aspects cliniques et lésionnels et enfin nous envisagerons le diagnostic.

I. Les conditions d'apparition

Les conditions d'apparition des candidoses dépendent des sources d'infection et surtout des facteurs favorisants.

A. *Les sources d'infection*

La source d'infection des Candida est considérée en général comme endogène, les Candida étant des saprophytes habituels des muqueuses et de la peau.

Candida albicans, la seule espèce dont le pouvoir pathogène est hors de doute, n'a été qu'exceptionnellement isolée en dehors du corps humain ou animal. Toutefois, les autres espèces de Candida ont été retrouvées également dans la nature. Ainsi, les espèces *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. guillermondi*, ont été trouvées sur des fruits ou légumes en cours de décomposition ou sur des graines de céréales [16].

D'autres espèces de Candida, comme *C. tropicalis*, *C. lipolytica*, *C. pseudotropicalis*, ont été isolées à partir des produits laitiers, de fromages surtout.

C. albicans a été isolé très rarement en dehors de sources humaines ou animales et on peut penser que les échantillons de sol et de végétaux ont dû être contaminés par un *C. albicans* d'origine humaine ou animale.

Des études sur la flore mycologique de l'air de la région parisienne ont révélé une très faible proportion de Candida (2 à 3 %), mais certains auteurs ont fait des études à l'étranger dans des crèches où il y avait des épidémies de muguet et *C. albicans* n'a pas pu être décelé dans l'air.

Les Candida, champignons saprophytes, ne deviennent pathogènes que dans des conditions favorables. Ce sont des champignons opportunistes.

B. *Les facteurs favorisants*

Dans quelles conditions ces levures saprophytes deviennent-elles pathogènes ? La complexité étiologique est telle qu'il est difficile de réaliser expérimentalement une candidose chez les animaux domestiques. Toutefois nous pouvons noter parmi ces facteurs favorisants, des facteurs locaux et généraux.

1° *Facteurs locaux.*

Parmi ceux-ci, il faut signaler l'humidité et la macération qui jouent un rôle déterminant dans le développement des candidoses cutanées.

Les propriétés irritantes de certains antibiotiques, comme l'Auréomycine, ont été invoquées pour expliquer les accidents fongiques postantibiotiques; si des lésions d'irritation locale peuvent survenir, elles ne suffisent pas à expliquer complètement la pullulation des Candida et leur pathogénicité.

Enfin, l'acidité a été invoquée à propos de la candidose buccale : le muguet. Cependant on sait que le développement candidien est possible entre de larges limites de pH et le rôle de l'acidité peut être mis en doute.

2° *Facteurs généraux.*

Ceux-ci sont très importants. Les infections à Candida et particulièrement celles à *C. albicans*, se produisent surtout chez les sujets en état de moindre résistance ou à métabolisme perturbé.

Les facteurs prédisposants les plus souvent en cause sont :

— *d'ordre physiologique :* la gestation. Les cas de candidoses en médecine vétérinaire lors de gestation sont extrêmement rares;

— *d'ordre pathologique.* Indiscutablement, la prématurité, la débilité congénitale, les maladies chroniques, fournissent un nombre de cas de muguet et d'autres candidoses très élevé en médecine humaine. De nombreux facteurs sont à signaler : les toxémies, deshydratations, le diabète sucré, les hémopathies, les cancers, les endocrinopathies.

En médecine vétérinaire, la dénutrition, la carence en vitamine A et en facteurs du groupe B, ont été très souvent mentionnées. Le parasitisme et les traumatismes interviennent pour une large part dans les candidoses des oiseaux [35]. Jeoffery et Kenzy d'une part et Mayeda d'autre part, ont démontré que les mycoses aviaires étaient très souvent dues en grande partie à une carence en vitamines A et B et à un déséquilibre alimentaire [45];

— *d'ordre thérapeutique.* Si le rôle de tous ces facteurs précités a bien été mis en évidence, il n'en reste pas moins vrai que les principaux sont certains traitements modernes. En effet, toutes les statistiques concordent, c'est depuis l'avènement et l'extension des traitements par les antibiotiques et les corticoïdes que les candidoses sont devenues si fréquentes.

1. *Les antibiotiques.* Parmi ce groupe de médicaments, les antibiotiques antibactériens tiennent la première place [13, 31]. L'action des antibiotiques sur le développement des levures est d'ailleurs amplement prouvée sur le plan expérimental. C'est ainsi que, chez les souris de laboratoire qui n'hébergent pas naturellement *C. albicans* et chez lesquelles l'infection du tractus intestinal par les levures est très difficile à réaliser, il suffit d'injecter trois jours de suite du *Candida albicans* dans l'estomac et deux jours plus tard 1,6 mg d'Auréomycine, de Terramycine ou d'Erythromycine par la même voie, pour obtenir un ensemencement rapide et massif du tube digestif par les levures (Brown, Sternberg).

De très nombreux travaux ont été consacrés aux mécanismes par lesquels les antibiotiques augmentent l'incidence et la gravité des candidoses. Quoique sur certains points les résultats des études soient parfois contradictoires, on attribue aux antibiotiques :

— une action directe sur les Candida;

— une action indirecte sur l'hôte.

- Action directe : plusieurs travaux ont montré que les antibiotiques à large spectre tels que les Tétracyclines et la Néomycine par exemple, stimulaient « in vitro » la prolifération des Candida. En présence de Tétracycline, les Candida ont la possibilité d'en consommer une partie [3]. Ces faits ont été confirmés par l'expérimentation.

- Action indirecte : l'action favorisante des antibiotiques sur le développement des Candida s'exerce principalement par voie indirecte, à travers l'hôte. L'antibiothérapie détruit la majeure partie des bactéries intestinales, crée un déséquilibre de la flore intestinale et permet aux Candida de proliférer de façon spectaculaire. De plus, elle favorise la transformation des formes saprophytes en formes parasites.

Lorsque les antibiotiques sont administrés par voie orale, leur action irritante locale sur la muqueuse digestive est loin de jouer un rôle négligeable.

Par ailleurs, des travaux réalisés ces dernières années attribuent une importance certaine à la diminution des défenses (humorales et cellulaires) de l'organisme sous antibiothérapie [1].

2. *Les corticoïdes.* Leur action inhibitrice sur les défenses de l'organisme crée, surtout en traitement prolongé, des conditions favorables à une surinfection bactérienne et candidique. L'expérimentation animale a été confirmée par les observations en clinique humaine [19].

En médecine humaine, d'autres médicaments entrent en jeu : les hormones sexuelles, certains antifongiques dont l'action se limite aux dermatophytes, des dérivés de l'Imidazole, les antimitotiques et immunodépresseurs et les drogues psychotropes.

Il faut noter qu'il existe quelques facteurs peu importants que nous avons classé dans une rubrique : facteurs prédisposants d'ordre général;

— *d'ordre général :*

1. *L'âge.* Quoique les infections à Candida puissent survenir à tous les âges, il semble que chaque âge ait un type de candidose qui lui soit propre. Les jeunes sont plus souvent atteints que les adultes par la localisation aux premières voies digestives (muguet grave sur le plan économique et médical quand il atteint les volailles) et par les formes septicémiques. Au contraire, chez les adultes, sont plus fréquentes les localisations génitales (surtout en médecine humaine) et les localisations cutanées.

2. *La saison.* Henri Saëz, en ce qui concerne les Mammifères, avait mentionné que la distribution des candidoses ne suivait aucun rythme saisonnier [34]. Par contre, il semble que les candidoses du paon soient plus nombreuses en hiver et au printemps [35]. Pour le dindon, la poule et la pintade, il faut retenir un caractère saisonnier très net : la fréquence estivale de la maladie, qui sévit surtout en juillet et en août. Les raisons précises de cette poussée estivale ne sont pas connues.

De ces diverses considérations, nous pouvons retenir une faible incidence de la saison sur la fréquence des candidoses.

3. *L'alimentation.* Celle-ci a été souvent incriminée dans la fréquence des candidoses lors de régime alimen-

taire déséquilibré. Le régime hyperglucidique, les carences en acides gras insaturés, en vitamines A et B, favorisent l'extension du processus mycosique.

4. *Relations entre Candida et certaines bactéries.* Il est enfin important de mentionner certains travaux qui ont montré qu'il existe des relations de symbiose entre Candida et certaines espèces microbiennes.

Lorsqu'on cultive ensemble, sur des milieux solides, *Candida albicans* et *Mycobacterium tuberculosis*, il est fréquent d'observer le développement de colonies rugueuses de bacilles de Koch autour des colonies de Candida. De même, il existe des phénomènes de symbiose entre les différentes espèces de Candida et les espèces microbiennes du genre Staphylocoque doré et blanc ou Colibacille [17].

L'exposé de ces différents facteurs favorisants montre l'intérêt de notre expérimentation. Nous avons recherché, sur des animaux présentant des staphylococcies interdigitées et soignés pendant plusieurs jours aux antibiotiques antibactériens, l'apparition d'infections par *Candida albicans*.

II. Les aspects cliniques et lésionnels

Les manifestations cliniques de l'infection déterminée par les Candida et surtout par *C. albicans* affectent des localisations superficielles et des localisations profondes et prennent parfois un caractère septicémique. Elles sont dues à la fois à l'action pathogène directe du parasite et à son caractère allergisant.

Nous mentionnerons brièvement les divers aspects cliniques des candidoses rencontrées en médecine humaine, car ceci n'est pas l'objet de notre étude.

A. *En médecine humaine*

On distingue :

1° des candidoses des muqueuses comme le muguet ou candidose buccale et la perlèche à Candida ou candidose péribuccale ;

2° des candidoses des téguments. Celles-ci peuvent se présenter :

- sous forme superficielle, atteignant la peau glabre (érythèmes fessiers des nourrissons) ;

- sous forme infiltrée et ulcéreuse (granulome monilial) ;

- sous forme nodulaire et ulcéreuse ou granulomateuse, s'étendant en profondeur dans le derme ;

- sous forme généralisée avec abcès (il s'agit d'une candidose généralisée de la peau) ;

- enfin sous la forme de candidose des espaces interdigitaux [43] ;

3° des candidoses des phanères qui peuvent être soit des candidoses du cuir chevelu, soit l'onychomycose à Candida ;

4° des candidoses des muqueuses génitales (vulvovaginite à Candida et balanoposthite) ;

5° plus rares sont :

- les candidoses du système nerveux,

- les septicémies à Candida,

- les candidoses des organes des sens,

- les candidoses respiratoires : bronchiques et pulmonaires,

- les endocardites à Candida,

- les candidoses péritonéales et urinaires ;

6° par contre, les candidoses du tube digestif sont très fréquentes [26, 47], candidose amygdalienne, candidose du tube digestif, candidose anale;

7° les manifestations allergiques de l'infection par *C. albicans* sont surtout connues chez l'Homme et nous ne les mentionnerons pas.

B. *En médecine vétérinaire*

Nous distinguerons les candidoses superficielles atteignant les premières voies digestives, les muqueuses génitales, la peau et les muqueuses superficielles, les candidoses profondes des divers viscères et la candidose septicémique; les manifestations de l'allergie à *C. albicans* sont très rares chez nos animaux.

1° *Candidose des premières voies digestives: le muguet.*

Il est commun à l'Homme et aux animaux (Mammifères et Oiseaux) et affecte très particulièrement les sujets très jeunes. Il est électivement localisé à la bouche chez les Mammifères et au jabot chez les volailles et il est caractérisé par le développement, sur les muqueuses affectées, d'un enduit caséocrémeux blanc-grisâtre ou blanc-jaunâtre peu adhérent.

Le muguet des volailles est la forme la plus importante de la maladie en médecine vétérinaire. Sa localisation la plus commune est le jabot : il s'agit d'une ingluvite mycosique. Les symptômes sont très peu apparents. La maladie se manifeste d'abord par un mauvais état général, des troubles fonctionnels sont possibles mais inconstants, il peut s'agir de dysphagie et de phénomènes nerveux. Les lésions buccales sont rares et si elles se développent, elles évoquent celles que nous décrirons

plus loin chez les Mammifères. La muqueuse du jabot est épaissie, infiltrée et recouverte d'un abondant exsudat épais, mucoïde, blanc-grisâtre, peu abondant.

J. Le Pennec a remarqué lors de candidoses sur les poules une monocytose sanguine et une leucopénie avec hypoplasie médullaire [21]. Peut-être que les toxines excrétées par *C. albicans* en sont la cause ?

Le muguet des Mammifères affecte électivement la cavité buccale. Toutes les espèces peuvent être atteintes, mais particulièrement le Porc et les Bovins. Les sujets jeunes sont les plus fréquemment frappés, les symptômes sont d'abord ceux d'une stomatite banale, affectant en premier lieu la langue, puis les joues, le palais, les gencives. Sur les muqueuses atteintes se développe un enduit caséo-crémeux, blanchâtre, en nappe, peu adhérent et qu'on détache facilement par écouvillonnage. Cette forme est une forme aiguë et peut entraîner des troubles fonctionnels: difficulté de la préhension, de la mastication et de la déglutition des aliments. L'évolution de la maladie est lente, sauf si le muguet n'est que le symptôme d'une maladie cachectisante dont il annonce le dénouement fatal à bref délai. Des complications sont possibles, avec extension de la candidose au tractus gastro-intestinal, à diverses muqueuses, à l'arbre trachéobronchique, à la peau. Des phénomènes allergiques peuvent aussi évoluer au cours de cette phase extensive de la maladie [11].

2° *Candidose des muqueuses génitales.*

Ces localisations sont moins connues bien qu'on ait isolé *C. albicans* de la flore vaginale de génisse et du sperme de taureau, mais sans lésions appréciables des voies génitales. En revanche, on connaît une candidose utérine et fœtale provoquée par *C. albicans* et par d'autres espèces de Candida pathogènes. Mais cette localisation n'entre pas dans les formes superficielles de la candidose à *C. albicans* [cf. infra].

3° *Candidoses de la peau et des muqueuses superficielles.*

Rappelons d'abord l'impossibilité pour *C. albicans* de vivre en saprophyte sur la peau. On n'isole le champignon qu'en présence de peaux lésées. Les localisations cutanées et muqueuses de *C. albicans* sont rares.

a) Chez les volailles : on connaît une candidose de la commissure du bec, décrite chez la perdrix et le canard, avec exsudation et nécrose épidermique. *C. albicans* peut déterminer des lésions nécrotiques des tarses avec pénétration profonde du stratum corneum par les hyphes et pseudohyphes du parasite.

b) Chez le chien : la candidose cutanée à *C. albicans* est connue. Elle affecte diverses parties du corps : encolure, dos, région périnéale, extrémités des membres, conduit auditif externe (on a signalé aussi des otites externes à *C. tropicalis*). Elle se manifeste sous la forme de lésions exsudatives chroniques : érythème et infiltration de la peau, suivis de vésiculisation, puis de pyodermie. Le tégument malade est humide et couvert de croûtes brunes. Bientôt la peau s'épaissit et forme des plis suintants. Le prurit est généralement très marqué.

Du point de vue histologique, ces lésions se caractérisent non seulement par de l'exosérose et de la nécrose épidermique et des micro-abcès sous-cornéens, mais aussi par une dermite granulomateuse. Un cas de granulomatose cutanée a été décrit. Cette lésion était accompagnée de métastases osseuses, ligamenteuses, pleurales, endocardiques et lymphatiques qui ont entraîné la mort dans la cachexie. Ces lésions consistaient essentiellement en des mycétomes à grains blancs. A la coupe histologique, ces grains apparaissaient constitués de très nombreuses levures

et chlamydospores enveloppés d'une réaction cellulaire à prédominance macrophagique.

Le parasite agent de cette curieuse lésion a été étudié par R. Morquer, E. Puget et A. Bazex. Ses caractères morphologiques et auxanographiques étaient différents des autres espèces connues; c'est pourquoi ces auteurs en ont fait une espèce nouvelle : *C. pseudotumoralis* [27].

c) Chez le porc : on a décrit des cas de candidose cutanée à *C. albicans*, se manifestant en divers points du corps et revêtant une forme exsudative. Les lésions, d'aspect nummulaire, sont recouvertes d'un exsudat grisâtre, humide, peu adhérent. Sous cet exsudat, la peau est épaissie, ridée et pigmentée de brun violacé. Ces lésions sont parfois dépilées, mais pas constamment. Le prurit est très peu marqué.

L'examen histologique révèle la pénétration de la couche cornée par des pseudo-filaments s'étendant jusqu'au corps muqueux de Malpighi. L'étude mycologique montre la présence de *C. albicans* dans les lésions.

d) Chez les singes : ils peuvent aussi présenter de la candidose cutanée à *C. albicans*.

e) Enfin les bovins : où les Candida pourraient participer à l'étiologie du granulome de Roëckl. En effet, ces champignons ont été parfois isolés de cette lésion [11].

4° *Candidoses du tractus digestif.*

Cette localisation est connue chez les Porcins, les Bovins et les Carnivores. Elle intéresse la partie distale de l'œsophage et l'aire œsophagienne de l'estomac chez le porc, l'œsophage terminal et le rumen chez les Bovins, la partie distale du grêle et le côlon chez le chien et le chat.

Cliniquement la candidose digestive est sans caractères marqués (diarrhée inconstante et non spécifique), sauf en

cas de perforation d'ulcères suivie de péritonite, elle se traduit sur le cadavre par une inflammation ulcérative, par l'évolution de micro-abcès et dans les formes les plus légères, par une prolifération épithéliale dyskératosique. En cas de perforation d'ulcère, on trouve aussi des lésions de péritonite. Bien que peu sévères intrinsèquement, les localisations digestives de *C. albicans* peuvent avoir de graves conséquences: ce sont les principaux foyers à partir desquels risquent de se développer d'autres localisations viscérales ainsi que la candidose septicémique.

5° Plus rares sont :

— *la candidose bronchopulmonaire.* La localisation respiratoire, à partir de ces foyers, peut être d'origine hématogène ou pharyngée (complication du muguet buccal). Cette localisation, bien que connue chez les Bovins et chez les volailles, est rare en médecine vétérinaire. Nous en décrirons un cas chez le chien dans notre partie expérimentation;

— *la candidose cardiovasculaire.* On a signalé chez le dindon des athéromes aortiques d'origine candidienne, parfois associés à un anévrisme de l'aorte, pouvant provoquer la rupture du vaisseau;

— *la candidose à localisation encéphalo-méningée,* observée en cas de candidose septicémique, cette forme peut aussi être constatée isolément, notamment chez les volailles;

— *les candidoses utérines :* avortements d'origine candidienne. Ces avortements sont déterminés par *C. tropicalis, C. krusei, C. guillermondi, C. albicans.* La localisation à l'utérus gravide est consécutive à un apport hématogène comme le confirment les résultats d'infections expérimentales effectuées chez des vaches gestantes. Parvenus dans l'utérus, les parasites envahissent les annexes fœtales puis le fœtus. Les parasites sont

décelables dans les cotylédons, le placenta et le fœtus lui-même;

— *les candidoses mammaires:* mammites candidiennes. A l'origine de ces infections se trouvent : *C. tropicalis, C. pseudotropicalis, C. krusei, C. albicans.* Les mammites candidiennes sont d'allure aiguë et provoquent un état fébrile. On observe un œdème inflammatoire et parfois une réaction ganglionnaire;

— beaucoup plus rares sont : *la localisation oculaire* : conjonctive, cornée, chambre antérieure, tractus uvéal; *la localisation nasale et sinusale* (nous en avons décrit un cas au cours de notre expérimentation) ; *la localisation laryngée et pancréatique.*

6° *Candidose septicémique.*

Dans le déterminisme de cette forme, les conditions de terrain jouent un rôle plus grand encore que dans les cas précédents. Elle est connue notamment chez les Ovins où l'alimentation hyperglucidique semble être un facteur étiologique important. Cette forme provoque un état fortement fébrile et s'accompagne d'une polynucléose. Sur le cadavre on note la présence, dans les tissus infectés, de nombreux granulomes évoluant vers la nécrose ou l'abcédation et dans lesquels on met en évidence, par examen microscopique ou sur coupes histologiques, les formes caractéristiques du parasite.

De nombreuses manifestations pathologiques des muqueuses, de la peau, des viscères ont été attribuées à des Candida, seul le diagnostic expérimental permet de lever le doute et il est un moyen très important pour la diagnose des candidoses.

III. Le diagnostic

Quelques facteurs épidémiologiques, certains aspects cliniques et lésionnels nous aideront à reconnaître les candidoses, mais le plus souvent le diagnostic expérimental sera obligatoire.

A. *Recherche des conditions d'apparition*

Nous avons signalé la très grande fréquence de la vie saprophytique des espèces candidiennes, y compris *C. albicans*. Ces espèces sont donc généralement bien tolérées et la réceptivité de l'organisme à leur égard doit être favorisée par divers facteurs.

- L'influence de l'âge est à noter. Les jeunes sujets sont plus souvent atteints que les adultes par la localisation aux premières voies digestives (muguet) et par les formes septicémiques. Au contraire, chez les sujets adultes sont plus fréquentes les localisations génitales et les localisations cutanées.

- Un état général déficient accompagné régulièrement d'une diminution de la résistance de l'organisme a été invoqué depuis très longtemps. Les maladies débilitantes fournissent un nombre considérable de cas de candidoses. Ceci est valable également pour certaines affections malignes, surtout hématologiques (leucémies, maladie de Hodgkin, aplasies médullaires) dans lesquelles il est difficile de faire la part de l'affection elle-même et des thérapeutiques appropriées (antimitotiques, antibiotiques, corticoïdes, rayons X) efficaces mais agressives.

- Les affections se manifestant par un effondrement de l'immunité humorale ou cellulaire ont pu être compliquées de candidose.

- Il semble que de nombreux auteurs s'entendent pour accorder la grande part de responsabilité des candidoses aux antibiotiques.

- Il ne faut pas omettre les erreurs alimentaires chez nos animaux et plus particulièrement l'alimentation hyperglucidique chez les Ovins, les carences en vitamines chez les volailles.

- La mauvaise hygiène peut aussi être un facteur aggravant.

Ces facteurs épidémiologiques ne sont pas très précis et les aspects cliniques et lésionnels nous aideront pour le diagnostic.

B. *Diagnostic clinique et anatomopathologique*

Le diagnostic des candidoses des premières voies digestives ou muguet est facile. L'enduit caséocrémeux est quasi-pathognomonique. Il n'en sera pas de même en ce qui concerne les volailles car on n'observe généralement pas de lésions buccales. L'endoscopie ingluviale a été proposée, mais il est plus simple, dans les populations malades, de sacrifier un ou deux sujets très atteints et d'en faire l'examen nécropsique. On note que la muqueuse du jabot est épaissie, infiltrée et recouverte d'un exsudat épais, mucoïde, blanc grisâtre, peu adhérent.

La candidose des muqueuses génitales est le plus souvent accompagnée d'un prurit intense. L'œdème de la vulve et l'aspect congestif de la muqueuse, rouge violacé, sont fréquemment observés. La mise en culture des prélèvements confirmera le diagnostic.

Les candidoses de la peau et des muqueuses superficielles se manifestent sous la forme de lésions exsudatives chroniques avec érythème et infiltration de la peau.

On peut observer des croûtes brunes et une pellicule blanchâtre. Dans tous les cas, l'examen direct de produits de raclage des lésions et la mise en culture de ce matériel permettent le diagnostic.

Le diagnostic des cas de candidoses profondes est beaucoup plus difficile. Souvent nous sommes obligés de faire appel au laboratoire qui effectuera l'examen direct des prélèvements ou leurs mises en culture. Pour nos animaux, il sera plus simple de pratiquer l'autopsie d'un ou plusieurs sujets atteints dans les grands effectifs.

Dans la candidose du tractus digestif, nous noterons sur le cadavre l'inflammation ulcérative et les micro-abcès. Quelquefois, nous trouverons des lésions de péritonite.

Le diagnostic clinique des manifestations allergiques par *C. albicans* est très difficile, car ces allergies n'ont pas de caractère pathognomonique; c'est plutôt par élimination des autres causes que l'on pense à l'action allergisante de *C. albicans*.

Nous constatons que le diagnostic clinique est difficile pour les formes autres que le muguet. La maladie est toutefois présumée dans certaines conditions. La nécropsie permet de découvrir les lésions caractéristiques, mais bien souvent le diagnostic de laboratoire est indispensable.

C. *Diagnostic expérimental*

Le diagnostic expérimental des infections à Candida repose sur la recherche des éléments fongiques dans les lésions, par l'examen direct du prélèvement et par l'isolement des Candida en culture suivi de l'identification de l'espèce; celui-ci comprend également les réactions

immunologiques en vue du diagnostic des infections à Candida. Nous envisagerons tout d'abord les prélèvements, puis l'examen direct et la culture, enfin le diagnostic immunologique.

1° *Prélèvements.*

En fonction des différentes manifestations cliniques, nous effectuerons divers prélèvements que nous indiquons ici.

— *Prélèvement buccal.* Il s'effectue à l'aide d'un écouvillon stérile. Si l'examen n'est pas fait extemporanément, on ajoute au fond du tube un peu d'eau physiologique additionnée de Pénicilline (500 U/ml) et de Streptomycine (500 mcg/ml) ou de 500 mcg de Chloramphénicol et on conserve le prélèvement au réfrigérateur.

— *Prélèvement vaginal.* Ecouvillonnage dans les mêmes conditions.

— *Prélèvement cutané.* Les squames des lésions cutanées sont détachées par grattage à l'aide d'un bistouri et mises dans des boîtes de Pétri stériles. En cas de lésions suppurées, on fait sourdre par pression le pus que l'on récolte à l'aide d'une pipette.

— *Expectoration.* Afin d'éviter toute contamination, il est nécessaire de nettoyer la bouche avec une solution de Lugol ou un autre désinfectant. Les crachats mis dans un récipient stérile sont homogénéisés et additionnés de Pénicilline et Streptomycine.

— *Prélèvement bronchique.* Le prélèvement bronchique, sous bronchoscopie, permet non seulement l'aspiration des mucosités d'origine bronchique ou pulmonaire, mais également les biopsies.

— *Selles.* Récolte dans un récipient stérile d'une quantité de matières fécales ou écouvillonnage rectal

suffisamment profond pour récolter un peu de matières fécales.

— *Liquides pathologiques* (pus, liquide céphalo-rachidien) sont additionnés de Pénicilline et de Streptomycine ou de Chloramphénicol ; ces produits peuvent être conservés au réfrigérateur avant d'être examinés et ensemencés.

— *Sang.* Récolte de sang total citraté, hépariné ou défibriné avec des billes de verre.

— *Biopsie.* Les pièces de biopsie sont partagées en deux parties : un fragment sert à l'examen anatomo-pathologique, l'autre est destiné à l'ensemencement et broyé dans un mortier avec du sable stérile.

2° *Examen direct.*

Les prélèvements pathologiques sont examinés au microscope :

- à l'état frais entre lame et lamelle (pus, matières fécales, liquides pathologiques après centrifugation) ;

- sur frottis colorés au Gram, au Giemsa ou au bleu de méthylène pour les prélèvements des exsudats des muqueuses et des liquides pathologiques ;

- dans la potasse à 30 % pour les squames et débris d'ongles ;

- sur coupes colorées à l'hémalun et à l'acide périodique - Schiff, ou coloration de Hotchkiss - Mac Manus (biopsies opératoires ou nécropsiques).

a) *Examen microscopique des préparations fraîches ou des frottis de prélèvements pathologiques.*

Les Candida apparaissent sous forme de levures, petites cellules isolées de 2 à 4 μ, ovales, bourgeonnantes, à paroi mince, accompagnées ou non de filaments mycéliens. Ces

filaments, formés d'articles de longueur variable à extrémités arrondies, mesurent de 3 à 5 μ de diamètre; parfois deux articles sont en prolongement l'un de l'autre; au point de jonction, on observe souvent quelques éléments bourgeonnants. La présence de levures bourgeonnantes et de filaments permet le diagnostic du genre Candida qui se différencie des autres levures comme :

— les Cryptococcus, levures rondes encapsulées, non filamenteuses;

— les Saccharomyces, qu'on peut trouver dans les selles si le sujet a été traité par diverses préparations de levures commerciales;

— les Géotrichum, à mycélium segmenté en cellules rectangulaires de 4 à 8 μ à bouts plus ou moins arrondis, saprophytes qui peuvent se rencontrer également dans la cavité buccale, dans les selles et dans les crachats.

Dans les crachats, les filaments de Candida doivent être distingués des filaments d'Aspergillus qui peuvent être accompagnés de spores de 2 à 3 μ, rondes, vert grisâtre, qui ne bourgeonnent pas, ce qui les différencie des levures qui accompagnent les filaments de Candida.

La différenciation est plus facile à faire avec des filaments d'Actinomyces et de Nocardia qui ont les dimensions des bactéries ne dépassant pas 1 μ de largeur [8].

b) *Examen anatomopathologique des coupes histologiques.*

Les Candida se présentent soit sous la forme de levures (cellules isolées ou bourgeonnantes), soit sous forme de levures et de filaments mycéliens. La présence de ces deux formes, levures et filaments mycéliens, permet avec certitude le diagnostic de Candida.

En présence de filaments, on peut d'emblée exclure *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* et *Blastomyces dermatitidis*, champignons qui ne filamentent pas dans les tissus.

Le diagnostic différentiel est à faire avec les filaments d'Aspergillus ou de Mucor. Pour Aspergillus, les filaments sont également septés, mais légèrement plus larges et plus ramifiés et il faut noter l'absence de levures dans les coupes de tissus. Pour Mucor, les filaments sont non septés, de largeur variable entre 6 et 50 μ, très irréguliers, avec des zones de rétrécissement et d'élargissement.

Dans tous les cas, la mise en culture nous permettra d'isoler et d'identifier l'espèce en cause.

3° *Culture.*

Les recherches sont poursuivies par l'isolement et l'identification des Candida.

a) *Isolement des Candida.*

Les produits pathologiques sont ensemencés sur les deux milieux suivants :

— un milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné de Chloramphénicol (0,5 g ‰) ;

— milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné d'Actidione (0,5 g ‰) et de Chloramphénicol (0,5 g ‰) [7].

Pour les hémocultures, on utilise des ballons contenant du milieu de Sabouraud liquide citraté. Le bouillon ordinaire permet également l'isolement, mais le développement des levures est plus lent ; l'addition d'une ampoule de 10 ml de glucose à 20 % pour 100 ml de bouillon facilite ce développement.

Le milieu de Sabouraud + Actidione inhibe ou retarde le développement de certaines levures saprophytes de la peau comme *C. tropicalis*, *C. parakrusei*, *C. guillermondi*, ce qui permet une orientation du diagnostic des levures dès le premier isolement.

L'incorporation à ces milieux de Chloramphénicol, antibiotique à large spectre antibactérien, élimine les contaminants bactériens.

b) *Détermination des Candida.*

Sur les deux milieux utilisés, les levures se développent au bout de 24-48 heures, à 37°C pour *C. albicans* et à 25°C pour les autres, sous forme de colonies à peu près semblables. Les colonies de Candida sont blanchâtres, crémeuses, exceptionnellement mates pour *C. krusei*.

Microscopiquement, sur ces milieux, dans les premières 24-48 heures, les Candida ne se présentent que sous forme de levures et leur identification est impossible dans des délais si courts. Ce n'est qu'après plusieurs jours qu'on peut observer une filamentation des colonies levuriformes en profondeur, visibles même à l'œil nu, ce qui permet d'envisager le diagnostic du genre Candida.

1. *Genre Candida.*

Le repiquage sur milieu P.C.B. (pomme de terre-carotte-bile) :

— permet d'obtenir rapidement la filamentation des levures qui caractérise le genre Candida;

— permet également d'obtenir la production de chlamydospores, caractéristiques de *C. albicans*.

Après 24-48 heures d'incubation à la température ordinaire ou à 27°C, on prélève un fragment de gélose dans la zone filamenteuse développée légèrement en profondeur, on écrase entre lame et lamelle et on observe au microscope faiblement éclairé. Les Candida se présentent sous forme d'un pseudomycélium ou d'un vrai mycélium portant des verticilles réguliers de blastospores.

2. *Espèce Candida albicans.*

Deux épreuves permettent un diagnostic rapide de *C. albicans.*

— Milieu P.C.B.

L'espèce *C. albicans* se reconnaît sur le milieu P.C.B. par la formation de chlamydospores terminales ou latérales, rondes ou ovales, à paroi épaisse, mesurant 6 à 12 μ de diamètre; les levures bourgeonnantes ne dépassent pas 3-4 μ de diamètre.

— Filamentation dans le sérum.

Parallèlement à l'identification de *C. albicans* sur le milieu P.C.B., on effectue le test de Taschdjian, basé sur la formation de filaments dans le sérum. Quelques gouttes de suspension de levures dans 0,5 ml de sérum seront incubées durant 2 à 4 heures à 37°C; seules les espèces *C. albicans* et *C. stellatoïdea* filamentent dans le sérum.

3. *Autres espèces de Candida.*

Si les levures isolées ne donnent pas de chlamydospores sur milieu P.C.B. ou ne filamentent pas dans le sérum, on utilise les tests suivants dont les résultats sont obtenus rapidement. Les détails de ces tests et les tableaux de

classification ont été réunis dans le paragraphe « Caractères physiologiques ». Nous rappelons :

- la sensibilité à l'actidione;
- la réduction du tétrazolium;
- l'auxanogramme des sucres;
- la fermentation des sucres;
- l'étude des besoins vitaminiques [cf. supra].

4° *Diagnostic immunologique.*

Les Candida ont des propriétés antigéniques que démontrent la présence d'anticorps chez les sujets infectés et le développement, chez ces sujets, d'un état allergique.

a) *Les anticorps.*
Plusieurs réactions immunologiques sont utilisées.

1. *L'agglutination.* Des agglutinines, élaborées par suite d'une sollicitation par des antigènes pariétaux, et actives sur les formes levures, peuvent être mises en évidence. Il faut cependant noter que le sérum de sujets normaux, non infectés, peut aussi avoir des propriétés agglutinantes et ceci dans des proportions assez importantes, atteignant de 20 à 80 % des individus. Mais ces agglutinines normales n'agissent qu'aux faibles dilutions de l'ordre de 1/20 à 1/60, tandis que les agglutinines présentes chez les sujets infectés sont actives à des taux beaucoup plus bas de 1/620 à 1/5120.

2. *La réaction de fixation du complément* est rarement employée en France, peut-être en raison de son manque de spécificité. Chez les individus infectés par les Candida, cette réaction est positive en cas d'infection profonde.

3. *Les précipitations en gélose* sont communément utilisées dans le Service de Mycologie de l'Institut Pasteur. L'immunoprécipitation en milieu gélosé repose sur l'apparition d'une ou plusieurs lignes opaques de précipitation spécifique, correspondant aux divers couples d'antigènes-anticorps.

Trois méthodes ce sont montrées très utiles pour le diagnostic immunologique :

— *L'immunodiffusion double dans la gélose* peut être effectuée suivant la technique d'Ouchterlony ou suivant la technique du gradient. Après le temps d'incubation de 3 jours pour la première et de 24-48 heures pour la seconde, les bandes de précipitation apparaissent plus nettes devant certains trous d'antigène, à une distance qui varie suivant la teneur en anticorps de chaque sérum.

— *L'électrosynérèse* combine l'électrophorèse et la précipitation immunologique entre les antigènes de *C. albicans* et les sérums contenant des anticorps anti-Candida dans un gel d'agarose, elle s'avère être une technique très sensible, simple, permettant une réponse très rapide.

Dans les conditions techniques choisies, les immunoglobulines sont entraînées vers la cathode, alors que l'antigène migre vers l'anode. La rencontre entre ces deux constituants se traduit par la formation d'un trait de précipitation que l'on peut observer vers la fin de la migration [12].

— *L'immunoélectrophorèse* consiste à effectuer dans un premier temps la migration électrophorétique des antigènes; dans un deuxième temps, on creuse une gouttière centrale où l'on dépose le sérum [32]. Les arcs de précipitation commencent à être visibles dès les premières 24 heures, mais la lecture définitive est faite le 4^{e} jour. Certains traits particulièrement fins n'appa-

raissent qu'après coloration par le bleu de Coomassie. La présence d'un arc de précipitation est suffisante pour affirmer une infection profonde à *C. albicans*.

Aucune réaction positive n'a été décelée chez dix sujets atteints de candidose buccale et bucco-œsophagienne, d'après les recherches de Saëz [36].

4. D'autre part, les anticorps peuvent être recherchés par *la réaction d'immunofluorescence indirecte* grâce à la conjugaison de l'anticorps avec un conjugué fluorescent, cette réaction permet la visualisation du complexe antigène-anticorps.

Les travaux de Vogel et Padula, après les travaux de Coons, ont montré que cette méthode avait la même valeur que les réactions d'agglutinations ou de fixation du complément [46].

Les réactions de précipitation semblent constituer un test plus spécifique que les autres réactions, et en particulier plus spécifique que l'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des candidoses viscérales [42]. Nous verrons les détails de cette réaction dans notre chapitre « Expérimentation ».

b) *L'allergie.*

Cette allergie est surtout du type hypersensibilité retardée ou allergie vraie, liée à un anticorps fixé. L'hypersensibilité immédiate, ou de type anaphylactique, liée à un anticorps circulant, est beaucoup plus rare.

La preuve biologique de l'allergie à *C. albicans* ne peut être fournie que par la mise en évidence d'une réaction d'hypersensibilité cutanée. L'antigène utilisé est la

candidine, spécifique de l'allergie à Candida, utilisée à des concentrations variables de 1 p. 10 000 à 1 p. 1 000 choisies en fonction de l'acuité des symptômes et d'autant plus faibles que les manifestations cliniques sont plus violentes. La réaction pratiquée peut être :

- une intradermoréaction,
- ou une épidermoréaction.

Nous avons vu que l'allergie candidienne s'exprime par les deux types connus : immédiat et retardé. Il en résulte que la lecture de l'épreuve doit être faite dès la 10e minute qui suit l'introduction de l'antigène et jusqu'au 3e-5e jour.

La qualité de la réaction est appréciée, en matière d'allergie à Candida, plus d'après le taux de dilution auquel s'observe le seuil réactionnel que d'après l'intensité même des phénomènes inflammatoires provoqués [43]. D'autre part, il faut tenir grand compte, outre la réaction locale, des réactions focales éventuellement provoquées par l'introduction de l'antigène.

Quoi qu'il en soit, et sauf exception, le diagnostic immunologique en matière de candidose est loin, dans l'état actuel de nos informations, de présenter le même intérêt que dans d'autres domaines de la mycologie médicale (aspergilloses, histoplasmoses).

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Depuis l'avènement des antibiotiques antibactériens qui amènent la multiplication de la flore levuriforme intestinale, par disparition d'organismes vivants concurrents, et par manque de sécrétions par certaines bactéries de substances inhibitrices de la multiplication des Candida, la fréquence des infections à Candida s'est accrue considérablement dans divers domaines de la médecine.

Nous exposerons successivement les raisons du choix de nos animaux et des prélèvements; nous rappellerons les techniques retenues pour la recherche de l'apparition et du développement de *C. albicans* et nous décrirons les observations faites sur les animaux non traités et traités aux antibiotiques antibactériens.

CHAPITRE PREMIER

CHOIX DES ANIMAUX ET DES PRÉLÈVEMENTS

I. Animaux utilisés

Nous nous sommes cantonnés aux chiens, animaux de choix de par leur nombre en clinique et de par la fréquence des traitements par antibiotiques qu'ils

reçoivent. Ces chiens présentaient des Staphylodémodécies, des Staphylococcies interdigitées et, quelquefois, généralisées. Un de nos chiens souffrait d'un eczéma suraigu sécrétant compliqué d'une staphylococcie.

Tous ces animaux étaient traités aux antibiotiques : Pénicilline, Streptomycine, Chloramphénicol, Lincomycine.

Nous avons aussi essayé de réaliser expérimentalement une candidose sur des chiens, avec succès dans un cas.

Les animaux, tous hospitalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, ont été suivis durant tout le traitement aux antibiotiques.

II. Prélèvements

Au début de notre étude expérimentale, nous avons effectué systématiquement des prélèvements nasal, cutané et rectal avec des écouvillons stériles.

1° *Prélèvement nasal.*

On introduit dans l'orifice de chaque narine un écouvillon stérile assez profondément pour recueillir un peu de mucus.

2° *Prélèvement cutané.*

Nous frottons l'écouvillon stérile autour des lésions ou en cas de lésions suppurées, nous sortons le pus par pression et nous le récoltons sur l'écouvillon.

3° *Prélèvement auriculaire.*

On introduit l'écouvillon stérile dans le conduit auditif externe.

4° *Prélèvement rectal.*

Celui-ci est effectué suffisamment profond pour récolter un peu de matières fécales.

Nous avons constaté que les prélèvements nasal et cutané étaient généralement négatifs et nous avons surtout recherché l'infection par *C. albicans* en effectuant des écouvillonnages rectaux.

Ces prélèvements étaient effectués tous les sept jours et le premier prélèvement était fait avant l'instauration du traitement. Durant toute l'observation, nous avons également prélevé du sang tous les sept jours pour rechercher les anticorps anti-Candida, témoins de l'infection.

Lors des autopsies nous avons prélevé, par écouvillonnage au niveau des lésions, les produits pathologiques suspects.

CHAPITRE DEUXIÈME

TECHNIQUES RETENUES POUR LA RECHERCHE DE *CANDIDA ALBICANS*

Nous avons décrit les techniques utilisées pour l'identification des levures du genre Candida. Ici nous mentionnerons les techniques que nous avons retenues pour l'identification rapide de *C. albicans*.

Pour l'isolement, nous avons employé le milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné de Chloramphénicol et ultérieurement le milieu liquide de Sabouraud acidifié ou additionné de Pénicilline-Streptomycine lorsque notre souche n'était pas pure.

Pour l'identification, nous avons retenu le test de Taschdjian, la formation de chlamydospores. Pour les autres levures du genre Candida, la sensibilité à l'actidione et le zymoauxanogramme nous ont aidés à identifier l'agent en cause. En ce qui concerne la recherche des anticorps anti-Candida, témoins de l'infection, nous décrirons la technique choisie : immunofluorescence indirecte.

I. Isolement

Les prélèvements effectués par écouvillonnage ont été ensemencés sur le milieu suivant. Sa composition est :

- peptone Chapoteaut. . . . . 10 g
- glucose massé. . . . . 20 g
- gélose. . . . . 20 g
- eau. . . . . 1 000 g

Faire dissoudre la peptone dans l'eau, ajouter la gélose et la faire fondre à l'autoclave à 120°C pendant une demi-heure. Au sortir de l'autoclave, ajouter le glucose et 0,5 g de Chloramphénicol, agiter, filtrer et répartir. Stériliser ensuite 20 minutes à 110°C.

Le pH du milieu est de 6,5 - 6,7.

Ce milieu de Sabouraud au Chloramphénicol nous permet d'obtenir, après incubation à 37°C pendant 24 heures, des colonies de levures sans bactéries puisque le Chloramphénicol est un antibiotique à large spectre. L'ensemencement se fait en effectuant des stries sinusoïdales sur la tranche de gélose. *C. albicans* se développe à 37°C, mais H. Saëz a montré que *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* peuvent se développer à 45°C-47°C [33]. Les Candida se reconnaissent à leurs colonies blanchâtres, crémeuses, exceptionnellement mates (*C. krusei*).

II. Purification des souches

Pour obtenir les souches pures nous avons employé plusieurs procédés.

— Une colonie isolée est mise en suspension en eau distillée stérile et est repiquée en dissociation, selon la méthode des quadrants, sur un milieu gélosé glucosé de Sabouraud additionné de Chloramphénicol et coulé en boîtes de Pétri. On prélève le dessus d'une colonie et l'on vérifie entre lame et lamelle au microscope qu'aucune souillure n'accompagne la souche.

— Une colonie peut être émulsionnée dans un milieu liquide de Sabouraud acidifié, ainsi que le recommande Van Breuseghem, ou additionné d'antibiotiques. La composition de ce milieu est la suivante :

- peptone Chapoteaut. . . . . 10 g
- glucose massé. . . . . 20 g
- eau. . . . . 1 000 g

Faire dissoudre à chaud la peptone et le glucose dans l'eau, filtrer, répartir en tubes et stériliser 20 minutes à 110°C.

Le pH du milieu est aux environs de 6,6. On peut l'acidifier en ajoutant à 5 ml de Sabouraud liquide :

- 3 gouttes d'HCl N qui donnent un pH de 3,1,
- 5 gouttes d'HCl N qui donnent un pH de 2 [45].

Le milieu de Sabouraud liquide peut être additionné du mélange Pénicilline-Streptomycine contenant 500 UI/ml de Pénicilline et 500 µg/ml de Streptomycine.

Après une incubation de 24 heures à 37°C, nous ensemençons une öse du mélange sur le milieu gélosé glucosé de Sabouraud au Chloramphénicol.

— On peut également utiliser le milieu de Raulin (pH 3,5). Après un ou deux passages de 3 à 5 jours, les bactéries sont éliminées. On ensemence ensuite sur un milieu d'épreuve Sabouraud.

III. Identification de C. albicans

Comme nous l'avons mentionné plus haut, nous avons retenu le test de Taschdjian et la formation des chlamydospores.

A) *Test de Taschdjian*

Ce test basé sur la formation de filaments dans le sérum est très rapide. Nous avons recueilli du sang de cheval non traité aux antibiotiques antifongiques. Le sérum obtenu après centrifugation à 3 000 tours pendant 15 minutes a été réparti à raison de 0,5 ml dans des tubes à hémolyse. Ceux-ci sont conservés à — 20°C au congélateur et sont utilisés suivant les besoins. Une colonie de levures suspecte est ensemencée dans 0,5 ml de sérum; après une incubation de 4 heures à 37°C. on examine une goutte de la suspension, entre lame et lamelle, au microscope faiblement éclairé (objectif 20 et 40). *C. albicans* et *C. stellatoïdea* présentent des levures avec des tubes germinatifs de 20 à 30 μ.

B) *La formation des chlamydospores*

On utilise le milieu de routine dit milieu P.C.B. (pomme de terre, carotte, bile). La composition est celle-ci :

- carottes épluchées et rapées..... 20 g
- pommes de terre épluchées et rapées.... 20 g
- eau..... 1 000 g

Faire macérer à froid pendant une heure, porter à ébullition cinq minutes, filtrer sur gaze et une fois le liquide froid ramener à un litre avec de l'eau.

- liquide filtré..... 1 000 g
- gélose..... 25 g
- bile de bœuf fraîche..... 150 ml

Chauffer sur le gaz jusqu'à ce que la gélose soit fondue, filtrer sur un tampon de coton, répartir et stériliser 20 minutes à 110°C.

Nous ensemençons une colonie de levures en effectuant des stries en surface et une strie terminale en profondeur sur la tranche de la gélose. Après une incubation de 24-48 heures à la température ordinaire, on prélève un fragment de gélose dans la zone filamenteuse, on fait fondre entre lame et lamelle lentement à la veilleuse du bec de gaz, et on regarde au microscope.

Pour *C. albicans*, on obtient des chlamydospores caractéristiques terminales ou latérales, rondes ou ovales, à paroi épaisse, mesurant de 8 à 12 μ de diamètre. Les levures ne dépassent pas 3 à 4 μ de diamètre.

IV. Identification des levures du genre Candida autres que C. albicans

Nous compléterons l'identification de ces levures par la recherche de la sensibilité à l'actidione et le zymoauxanogramme qui sont effectués à partir des levures isolées sur la gélose Sabouraud au Chloramphénicol.

A) *La sensibilité à l'actidione*

La colonie de 24 heures est ensemencée sur milieu gélosé glucosé de Sabouraud, additionné d'actidione. On note au bout de 24 heures d'incubation à 27°C-30°C le développement ou l'absence de croissance de la culture.

B) *Le zymoauxanogramme*

Cette étude permet de noter l'assimilation des sucres (auxanogramme) et la fermentation des sucres (zymogramme).

Le milieu de base utilisé est :

- bactopeptone. . . . . 4,50 g
- bactoagar. . . . . 9,00 g
- Yeast extract. . . . . 0,45 g
- acide paraaminobenzoïque (facultatif) . . 0,012 g
- bromocrésol pourpre. . . . . 0,012 g
- eau distillée q.s.p. . . . . 300 ml

Homogénéiser, faire fondre à vapeur fluente. Ajuster le pH. qui doit être de 7, avec HCl (N) ou NaOH (N). Ajouter à ce milieu encore chaud (45°C) un volume égal d'une solution à 20 % du sucre à étudier (la concentration finale du milieu en sucre est de 10 %).

Les sucres utilisés sont: le glucose, le maltose, le lactose, le saccharose, le galactose, et le raffinose. Si possible filtrer cette solution de sucre sur filtre Seitz et la diluer au besoin avec de l'eau distillée stérile.

Stériliser en tubes de 12. sur 7 cm de hauteur. Stériliser à vapeur fluente ou au plus à 110°C pendant 10 minutes si la filtration sur Seitz est impossible.

Les milieux refroidis et solidifiés en culots, sont ensemencés en effectuant un trait horizontal en surface et une piqûre centrale en profondeur.

Le virage doit être franc pour être positif. Une teinte jaune en surface correspond à une assimilation en sucre. Une teinte jaune en surface et en culot correspond à

une assimilation et à une fermentation. Les résultats douteux ont été éliminés et les ensemencements refaits.

La lecture s'effectue après 48 heures d'incubation à 27°C, les limites extrêmes sont de 24 heures à 4 jours.

Nous rappelons ici quelques règles concernant le zymo-auxanogramme [37] :

Lois de Kluywer-Dekker.

- Toute levure qui ne fait pas fermenter le glucose ne fait fermenter aucun autre sucre.
- Toute levure qui fait fermenter le glucose, fait fermenter aussi le fructose et le mannose.
- Aucune levure ne peut fermenter à la fois maltose et lactose.
- Toutes les levures consomment le glucose.
- Un sucre fermenté est nécessairement assimilé [45].

Les tableaux d'identification des levures du genre Candida ont été mentionnés dans la première partie et permettent de classer les principales espèces rencontrées couramment.

V. Diagnostic immunologique

Pour la recherche des anticorps anti-*Candida albicans*, nous avons utilisé la réaction d'immunofluorescence indirecte, dont nous ne rappellerons pas le principe. Le problème des fluorescences non spécifiques a rendu plus difficile l'interprétation de cette réaction. Elles sont dues soit à la nature de l'antigène qui peut se révéler brillant spontanément, soit à l'antiglobuline insuffisamment purifiée. Pour le résoudre, on a recours à une contre-coloration par le bleu d'Evans qui est facile à réaliser et qui n'augmente que très légèrement la durée de la réaction.

Technique de la réaction

1° *Préparation de l'antigène : Candida albicans*

a) Culture en boîte de Pétri d'une souche pure de *Candida albicans* sur gélose Sabouraud pendant 48 heures à 37°C. Nous avons utilisé pour la préparation de l'antigène utilisé la souche type : *C. albicans* 405-A, provenant de la collection du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Lille.

b) Recueillir les colonies (en raclant la surface de la boîte de Pétri) ;

- les homogénéiser dans du sérum physiologique stérile;

- ajouter du formol pour obtenir la concentration finale de 2 % ;

- laisser en contact 24 h;

- centrifuger à 3 000 t/minute, pendant 10 mn, la suspension répartie dans des flacons pour centrifugeuse, avec fermeture métallique vissée, préalablement stérilisés ;

- laver le culot de levures deux fois dans du sérum physiologique stérile pour éliminer le formol;

- procéder à la mise en culture sur gélose Sabouraud pour s'assurer de la mort de la levure;

- préparer une suspension, de ces levures formolées et lavées, dans du sérum physiologique.

La densité convenable pour l'obtention d'un antigène est telle qu'après centrifugation, on doit obtenir un culot de levures correspondant environ à 2 % du volume total. Cette suspension bien homogénéisée est répartie sur les lames cerclées.

2° *Préparation des lames d'antigène C. albicans*

- Utiliser des lames fines (moins d'un millimètre d'épaisseur), sur lesquelles on grave au diamant deux cercles de 1 cm de diamètre;

- déposer une goutte de la solution d'antigène, dans chaque cercle;

- sécher à l'étuve à 37°C pendant 1 h 30 à 2 h;

- les lames peuvent être conservées pour une utilisation ultérieure dans des boîtes à lames, aux températures suivantes :

+ 4°C pour une utilisation dans les quelques jours,

— 20°C pour une utilisation dans les 15 jours,

— 70°C pour une utilisation dans un délai illimité.

Chaque sérum comportant six dilutions, nous aurons donc trois lames avec deux dilutions sur chaque lame.

Fixation : les lames d'étalements d'antigène ne sont fixées qu'au moment de la réaction par un bain d'acétone durant 10 minutes.

3° *Préparation des sérums*

Centrifuger à 3 000 t/mn, pendant 15 mn, le sang des animaux recueilli dans des flacons de verre stérilisés. Prélever le sérum stérilement.

Dilution des sérums : utiliser de l'eau physiologique (pH : 7). Les dilutions utilisées pour la recherche des anticorps anti-*Candida albicans* sont les suivantes :
1/10e, 1/20e, 1/100e, 1/200e, 1/400e, 1/1 000e.

4° *Formation du « complexe antigène-anticorps »*

a) *Répartitions des dilutions des sérums.*

Répartir une goutte de la dilution de façon à recouvrir chaque préparation d'antigène. La répartition des dilutions des sérums est faite sur les lames correspondantes, en commençant par la plus faible dilution.

Nous aurons soin de nous entourer de témoins :

lame « a » : témoin positif;
lame « b » : témoin négatif;
lame « c » : témoin du conjugué pour vérifier s'il n'est pas fluorescent (fausse fluorescence quand il est insuffisamment purifié).

b) *Incubation.*

Mettre les lames à l'étuve à 37°C, une demi-heure en atmosphère humide. Ce temps d'incubation correspond à la formation du « complexe antigène-anticorps ».

c) *Lavage.*

Les lames retirées de l'étuve sont placées, dos à dos, dans des paniers de verre et sont plongées dans deux bains successifs de solution tampon à pH 7,2, durant cinq minutes dans chaque bain.

d) *Essuyage.*

Essuyer la face postérieure des lames, ainsi que de chaque côté des cercles, sur la face des étalements; sécher les lames devant le ventilateur.

5° *Formation du « complexe fluorescent »*

a) *Préparation du « conjugué - contre colorant ».*

On dilue le conjugué au 1/20e et on ajoute du « bleu d'Evans » au 1/1 000e.

b) *Répartition du « conjugué - contre colorant ».*

On dépose une goutte sur chaque cercle antigénique (soit deux gouttes par lame).

c) *Incubation.*

Placer les lames à l'étuve à 37°C, une demi-heure en atmosphère humide. Ce temps correspond à la formation du « complexe fluorescent ».

d) *Lavage.*

Les lames retirées de l'étuve sont placées, dos à dos, dans des paniers de verre et sont plongées de nouveau dans deux bains successifs de solution tampon à pH: 7,2, durant cinq minutes dans chaque bain.

e) *Essuyage.*

Essuyer la face postérieure des lames, ainsi que de chaque côté des cercles, sur la face des étalements; sécher les lames devant le ventilateur.

6° *Montage des lames et lecture*

a) *Montage.*

Déposer une goutte de glycérine pure de Merck (pH : 7.2) sur chaque cercle. Recouvrir d'une lamelle.

b) *Lecture.*

Elle s'effectue à l'aide d'un microscope à brûleur de vapeur de mercure (haute pression = H BO 200), à l'objectif 40. Les filtres utilisés sont les filtres d'excitation BG 12 et le filtre K 530.

c) *Notation.*

- Réaction très positive : ++.
- Réaction positive : +.
- Réaction légèrement positive : (+).
- Réaction négative : —.

CHAPITRE TROISIÈME

RECHERCHE SYSTÉMATIQUE DES CANDIDA

Après avoir expliqué les conditions d'apparition des candidoses et après avoir exposé les techniques permettant d'effectuer le diagnostic, nous allons décrire les expérimentations que nous avons faites à ce sujet, chez des chiens soumis à antibiothérapie et chez des chiens témoins non traités par les antibiotiques.

I. Recherche en clinique chez des chiens soumis a antibiothérapie

A notre connaissance, aucune relation d'une expérimentation sur la recherche de l'infection par *C. albicans* sur les chiens traités par les antibiotiques antibactériens pendant une longue durée, n'a été faite. Nous ne pouvons rapporter ici que nos propres observations relevées dans nos hôpitaux de parasitologie.

Observation n° 1.

Vicky, cocker golden, mâle de 11 mois, appartenant à M. G..., 31 Nailloux (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien présentait une staphylodémodécie avec lésions interdigitées, dorsolombaires et péri-buccales. Il recevait par voie générale de la Pénicilline - Streptomycine

1 000 000 U (1 M) - 1 g et de la pommade à la Staphylomycine était appliquée localement.

— Le 23 novembre 1972, les prélèvements nasal, rectal, cutané au niveau des lésions interdigitées et péribuccales étaient négatifs; le prélèvement sanguin pour recherche des anticorps également.

— Le 30 novembre 1972, tous les prélèvements sont négatifs.

— Le 7 décembre 1972, les lésions s'étendent. Le prélèvement cutané interdigité nous permet de mettre en évidence 16 colonies de *C. albicans*. Le prélèvement rectal donne 40 colonies de *C. albicans*.

La réaction d'immunofluorescence est légèrement positive au 1/10e et au 1/20e.

— Le 14 décembre 1972, l'état général de l'animal s'aggrave. Le prélèvement nasal : 90 colonies; le prélèvement rectal: 120 colonies. Au 1/100e, une légère positivité est constatée.

L'animal, dans un état cachectique, est autopsié le 20 décembre. Nous constatons des lésions des premières voies digestives avec un muguet sur la partie postérieure de la langue. Les parenchymes pulmonaires présentent une multitude de grains blancs qui, ensemencés sur milieu Sabouraud au Chloramphénicol, ont confirmé une candidose pulmonaire. Dans la trachée et les bronches, nous observons quelques fausses membranes.

L'état de l'animal était très affecté et nous comprenons aisément que les Candida aient trouvé un terrain favorable pour se développer.

Observation n° 2.

Vaklant, dalmatien, mâle de 8 mois, appartenant à M. D.... 24 Périgueux (Consultation et Hôpitaux, Ecole

Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien avait été soigné par un confrère praticien, avant son arrivée à l'Ecole. Des lésions érythémateuses et suppuratives étaient localisées au bord des babines. Il avait reçu, per os. du Chloramphénicol et des corticoïdes pendant trois jours.

— Le 3 décembre 1972, les prélèvements cutanés et rectal étaient négatifs, ainsi que le prélèvement sanguin. Le chien recevait tous les jours de la Pénicilline-Streptomycine (1 M, 1 g).

— Le 10 décembre 1972, les prélèvements effectués étaient toujours négatifs. Le chien guéri sortit des hôpitaux le lendemain et nous n'avons pas pu continuer notre observation.

Observation n° 3.

Vicky, teckel à poil ras, mâle de 1 an, appartenant à M. S..., 31 Saint-Lys.

Ce chien, amené à la consultation pour une staphylodémodécie généralisée, a été hospitalisé. Tous les jours des injections de Pénicilline-Streptomycine (1 M, 0,5 g) sont effectuées par voie intramusculaire. Localement, de la pommade à la Staphylomycine est appliquée.

— Le 23 novembre 1972 et le 30 novembre 1972, les prélèvements cutanés, nasal et rectal sont négatifs ainsi que la recherche d'anticorps.

— Le 7 décembre 1972, seul le prélèvement rectal est positif. Nous obtenons 14 colonies de *C. albicans* sur le tube d'isolement.

— Le 14 décembre 1972, le prélèvement nasal présente 3 colonies, le prélèvement rectal 28 colonies. La recherche

des anticorps est positive au 1/20e et négative au 1/100e.

L'état de l'animal est très débilité et les lésions ne cicatrisent pas. Aussi l'euthanasie est effectuée. A l'autopsie, nous n'avons pas observé de lésions, une légère inflammation du tractus intestinal est à noter. Nous n'avons pas constaté, comme pour le chien n° 1, de lésions buccales ou pulmonaires, le nombre de colonies de *C. albicans* était beaucoup plus faible.

Observation n° 4.

Qual, chow-chow, mâle de 5 ans, appartenant à M. L..., 31 Toulouse (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Qual souffrait d'une staphylodémodécie localisée à la tête.

— Le 27 février 1973, les prélèvements nasal, rectal et cutané étaient négatifs. Ce chien recevait tous les jours de la Pénicilline et de la Streptomycine à la dose de 1 M - 1 g.

— Le 7 mars 1973, les prélèvements étaient négatifs. Le diagnostic immunologique nous donnait une forte positivité au 1/10e et au 1/20e, une positivité au 1/100e et 1/200e. Au 1/400e la réaction était négative.

Le chien, mort le 9 mars, fut autopsié. Nous découvrîmes des lésions de pleurésie fibrineuse, de stéatose hépatique et rénale et une hypertrophie générale des ganglions.

Aucun Candida ne fut isolé, mais il avait peut-être un foyer de candidose que nous n'avons pas détecté.

Observation n° 5.

Sultan, bleu d'Auvergne, mâle de 3 ans, appartenant à M. B..., 31 Aussonne (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Le chien nous est adressé pour une staphylococcie interdigitée. Le traitement instauré par voie intramusculaire se compose de Pénicilline (2 M) - Streptomycine (1 g).

— Les prélèvements nasal, rectal, interdigités, sont négatifs le 27 février 1973.

— Le 7 mars 1973, seul le prélèvement rectal est positif. Nous obtenons 32 colonies de levures de *C. albicans*.

Nous n'avons pas pu poursuivre nos recherches, car Sultan, vu l'amélioration de son état général, sortit des hôpitaux.

Observation n° 6.

Lady, setter gordon, femelle de 2 ans, appartenant à M. V..., 66 Perpignan (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Cette chienne est atteinte de staphylodémodécie avec des lésions péri-buccales, péri-oculaires. Elle reçoit tous les jours de la Lincomycine à la dose de deux gélules de 500 mg.

— Le 27 février 1973, les prélèvements sont négatifs. Le prélèvement rectal présente 40 colonies de levures du genre Saccharomyces.

— Le 3 mars 1973, aucune colonie de levures dans les ensemencements des prélèvements. Une légère positivité

est observée au 1/10e et au 1/20e dans la réaction d'immunofluorescence.

— Le 20 mars 1973 et le 27 mars 1973, tous les prélèvements sont négatifs.

La chienne est sortie des hôpitaux en très bon état et guérie.

Observation n° 7.

Ulf, berger allemand, mâle de 16 mois, appartenant à M. V.... 31 Saint-Alban (Hôpitaux. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Il présente une staphylococcie interdigitée et est soigné par l'association Pénicilline-Streptomycine à la dose de 1 M - 1 g.

— Les prélèvements nasal, rectal, cutané, effectués le 15 mars 1973, sont négatifs.

— Le 20 mars 1973, les prélèvements sont toujours négatifs, sauf le prélèvement rectal : 30 colonies.

Le prélèvement sanguin pour diagnostic immunologique est positif au 1/10e et au 1/20e, avec l'antigène *C. albicans*. La levure isolée du prélèvement rectal est *C. krusei*.

Le chien sortant, car la staphylococcie avait guérie, nous ne pouvons continuer notre observation.

Obsrvation n° 8.

Olf. berger allemand, mâle de 7 ans, appartenant à M. M.... 31 Colomiers (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

L'animal souffre de staphylococcie interdigitée. Tous les jours des injections de Pénicilline-Streptomycine (1 M - 1 g) sont effectuées.

— Le 15 mars 1973, les prélèvements nasal et rectal sont négatifs.

— Le 20 mars 1973, aucune levure n'est isolée. Le diagnostic immunologique est positif au 1/10^{e} et au 1/20^{e}, négatif au 1/100^{e}.

L'animal a été repris par le propriétaire le 24 mars 1973, car nous avions noté une très nette amélioration de son état.

Observation n° 9.

Vari, braque allemand, mâle de 10 mois, appartenant à M. G..., 82 Montpezat-du-Quercy (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien, présenté pour une staphylococcie interdigitée et s'étendant à tout le corps, est hospitalisé.

— Le 5 mai 1973, lors du traitement [Pénicilline-Streptomycine (2 M - 1 g)], nous effectuons les prélèvements nasal, cutané, rectal. Nous introduisons aussi dans le conduit auditif externe, un écouvillon pour recueillir quelques sécrétions. Nous obtenons 2 colonies de *C. albicans* pour le prélèvement rectal. Les anticorps sont à un taux très faiblement positif au 1/10^{e}.

— Le 14 mai 1973, les prélèvements des oreilles et du nez sont négatifs. Les levures produisent deux colonies de *C. albicans* sur l'ensemencement de l'écouvillonnage rectal. Le diagnostic immunologique est positif au 1/10^{e} et au 1/20^{e} et légèrement positif au 1/100^{e}.

Le 14 mai 1973, la dose d'antibiotiques avait été élevée à 3 M - 2 g jusqu'au 17 mai. Ensuite nous avons remplacé la Pénicilline-Streptomycine par de la Rovamycine (ND) en donnant 4 comprimés matin et soir.

— Le 23 mai 1973, on obtient une colonie de *C. albicans* pour l'ensemencement à partir de l'écouvillonnage nasal et 55 colonies pour l'écouvillonnage rectal. Le taux d'anticorps a augmenté. La réaction est très positive au 1/100e et positive au 1/200e.

— Le 30 mai 1973, nous constatons seulement 37 colonies de *C. albicans* à partir du prélèvement rectal. Le taux d'anticorps anti-Candida donne une très forte fluorescence au 1/200e.

Nous n'avions observé aucune cicatrisation et amélioration. L'animal fut sacrifié, aucune lésion de candidose n'a été décelée à l'autopsie.

Observation n° 10.

Titus, berger allemand, mâle de 18 mois, appartenant à M. P..., 31 Toulouse (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Titus est atteint de staphylodémodécie.

— Le 20 octobre 1973, les cultures à partir des écouvillonnages nasal et rectal sont négatives, le diagnostic immunologique aussi.

— Le 27 octobre 1973, seul le prélèvement rectal était positif : 80 colonies de levures que nous pensons être *C. krusei*.

— Le 3 novembre 1973, même résultat : 130 colonies pour le prélèvement rectal.

— Le 12 novembre 1973, nous trouvons dans la culture du prélèvement rectal des bactéries coliformes (identifiées sur plaque de diagnostic des Entérobactéries API) et 70 colonies de *C. krusei.*

— Le 19 novembre 1973, nous retrouvons le prélèvement fécal positif : 60 colonies. Le diagnostic immunologique est pour la première fois légèrement positif au $1/10^{e}$ et au $1/20^{e}$.

— Le 27 novembre 1973, le prélèvement rectal est positif : 50 colonies de *C. krusei.* Nous avons une légère positivité au $1/10^{e}$ et au $1/20^{e}$ pour les anticorps.

— Le 6 décembre 1973, nous avons dans l'ensemencement du prélèvement rectal : des bactéries coliformes et des colonies de *C. krusei* : 55 colonies. La dilution du sérum au $1/10^{e}$ est très positive, positive au $1/20^{e}$ et négative au $1/100^{e}$.

L'animal est sorti en excellente santé, apparemment guéri de sa staphylodémodécie. Les levures de *C. krusei* n'ont pas aggravé l'état général de l'animal.

Observation n° 11.

Taillaud, braque ariégeois, mâle de 2 ans, appartenant à M. L..., 31 Toulouse (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien présente une staphylococcie et recevra jusqu'au 20 novembre des injections de Pénicilline-Streptomycine (2 M - 2 g) et enfin de la Rovamycine (ND), per os, 4 comprimés matin et soir.

— Le 5 novembre 1973, après de nombreux repiquages pour isoler le germe pur, nous obtenons une levure que nous pensons être *C. krusei.* Il y avait 60 colonies à partir

de l'ensemencement de l'écouvillonnage rectal. Le diagnostic immunologique est négatif.

— Le 12 novembre, nous obtenons 80 colonies et le diagnostic de recherche des anticorps est légèrement positif au 1/20e et positif au 1/10e.

— Le 19 novembre, nous obtenons 30 colonies pour le prélèvement rectal. Le diagnostic immunologique nous donne les mêmes résultats que la semaine précédente.

— Le 27 novembre, le prélèvement rectal est positif. Nous obtenons deux sortes de levures. Des levures du genre Candida (*C. krusei*) et des très grosses levures de 12 μ de long qui sont des Saccharomyces. Le taux d'anticorps est le même.

— Le 6 décembre, nous obtenons toujours ces deux sortes de levures, avec *C. krusei* et Saccharomyces. Le taux d'anticorps donne une très forte positivité au 1/10e et une positivité au 1/20e.

— Le 13 décembre, toujours les mêmes résultats pour le prélèvement rectal et le même taux de positivité pour les anticorps qu'au prélèvement précédent.

L'animal est rendu à son propriétaire et semble parfaitement guéri.

Observation n° 12.

Kim, petit chien blanc, âgé de 2 ans, donné à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Nous avons essayé de créer une candidose expérimentalement en administrant à cet animal, en parfaite santé, tous les jours de la Rovamycine (ND) (trois comprimés matin et soir).

— Le 17 novembre 1973, le prélèvement rectal ense-

mencé nous donne 40 colonies de levures du genre Saccharomyces.

— Le 27 novembre 1973, nous avons toujours des colonies de Saccharomyces et 6 colonies de Pityrosporum.

— Le 6 décembre 1973, nous obtenons la même chose.

— Le 13 décembre 1973, le nombre des colonies de Saccharomyces est très élevé: 120; le nombre de colonies de Pityrosporum est de 11. Les prélèvements sanguins pour la recherche d'anticorps ont toujours été négatifs.

Après un mois d'observation, nous n'avons obtenu aucune levure pathogène de l'espèce *C. albicans*.

Observations n^{os} 13, 14, 15.

Miss, chienne genre courant, âgée de 2 ans, est donnée à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Cette chienne (13) vient d'avoir deux petits chiots (14, 15).

Nous tentons à nouveau de réaliser une candidose expérimentale. Nous la traitons avec de la Pénicilline-Streptomycine (1 M - 1 g), car la Pénicilline est un antibiotique dont l'élimination par voie mammaire est très élevée. Nous effectuons sur la mère et les deux chiots des prélèvements rectaux.

— Le 17 novembre 1973, les prélèvements rectaux nous donnent :

pour la mère : de très grosses levures du genre Saccharomyces (15 colonies) ;

pour les petits : des colonies de germes.

— Le 27 novembre 1973,

mère : toujours de très grosses levures (32 colonies) ;

petits : n° 14 : rien,

n° 15 : des colonies de germes.

Le diagnostic immunologique effectué uniquement sur le sang de la mère est légèrement positif au 1/10^{e} et au 1/20^{e}.

— Le 6 décembre 1973,

la mère : a toujours de très grosses levures dans l'ensemencement du prélèvement rectal (53 colonies) ;

petit n° 14 : nous obtenons 20 colonies de *C. albicans* et de nombreux germes ;

petit n° 15 : l'apparition de levures du genre *C. albicans* est notée. Il y a 16 colonies.

Les taux d'anticorps anti-Candida sont identiques aux précédents.

— Le 13 décembre 1973,

la mère présente dans l'ensemencement du prélèvement quelques colonies de Saccharomyces (8) ;

petit n° 14 : nous obtenons une centaine de colonies de *C. albicans* ;

petit n° 15 : le nombre de colonies est un peu plus élevé : 120.

Les deux petits chiots ne tètent plus, présentent de la diarrhée ; l'un meurt le 14 décembre et l'autre le lendemain.

A l'autopsie, nous avons noté une entérite sur les deux chiots.

Le petit n° 15 présentait un début de muguet.

Le taux d'anticorps anti-Candida de la mère est identique au précédent.

Ainsi, la mère n'a jamais eu de levures du genre Candida et était en excellente santé. Les petits ont présenté au bout de trois semaines des *C. albicans* dans les fèces. Nous pouvons donc mentionner que, lors de traitement antibiotique de longue durée, sur une chienne qui allaite des petits, il existe des risques de candidoses très grands pour les chiots.

Observation n° 16.

Dolly, épagneul breton, femelle de 8 mois, appartenant à M. C..., 11 Capendut (hospitalisée à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Cette chienne était atteinte de staphylodémodécie. Durant quinze jours, elle avait reçu, per os, de la Terramycine (ND), comprimés à 250 mg (trois par jour).

— Le 17 novembre 1973, le prélèvement rectal est positif. Nous obtenons 42 colonies de *C. albicans* sur le milieu d'isolement. Le diagnostic immunologique est négatif.

— Le 27 novembre, nous observons sur le milieu de Sabouraud au Chloramphénicol 50 colonies de *C. albicans*.

Nous regrettons de ne pas avoir pu continuer cette observation, car l'animal est parti de nos hôpitaux étant donné la guérison de la staphylodémodécie.

Observation n° 17.

Reine, setter irlandais, femelle de 6 ans, appartenant à M. C..., 31 Gourdan-Polignan.

Cette chienne est consultée pour une staphylococcie interdigitée et dorsolombaire. Des lésions sont aussi présentes autour des commissures labiales et des yeux. Le traitement instauré le 17 novembre était Pénicilline (1 M) - Streptomycine (1 g), jusqu'au 22 novembre, ensuite nous avons utilisé l'association Pénicilline (1 M) - Kanamycine (1 g).

— Le 17 novembre 1973, le prélèvement rectal ne donne en culture que des colonies de germes.

— Le 27 novembre 1973, nous obtenons les mêmes

résultats. Le diagnostic immunologique est toujours négatif.

— Le 6 décembre 1973, la culture du prélèvement nous donne beaucoup de germes et une colonie de levures qui a été très difficile à obtenir pure, mais nous avons réussi à isoler *C. albicans*. Le diagnostic immunologique est le suivant : positif au 1/10e, légèrement positif au 1/20e.

Nous ne pouvons pas interpréter cette seule colonie de levures comme pathogène. La chienne est partie en excellente santé, en bonne voie de guérison pour ses lésions cutanées.

Observation n° 18.

Titus, berger allemand, mâle de 4 ans, appartenant à M. C..., 31 Blagnac (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien souffrait d'un eczéma dorsolombaire suraigu sécrétant, compliqué d'une staphylococcie. Le traitement prescrit était l'association Pénicilline-Streptomycine (2 M-2 g) jusqu'au 29 novembre, puis Lincomycine, per os, à la dose de deux gélules de 500 mg par jour.

— Le 21 novembre 1973, le prélèvement rectal nous a permis d'isoler de nombreux germes.

— Le 28 novembre 1973, nous obtenons 30 colonies de levures du genre Saccharomyces. Le diagnostic immunologique est toujours négatif.

— Le 6 décembre 1973, l'ensemencement du prélèvement rectal sur le milieu d'isolement est toujours très abondant en germes. Nous notons une diminution du nombre de colonies de levures du genre Saccharomyces

qui n'est que de 14. Le taux d'anticorps est légèrement positif au 1/10e.

Ce chien traité aux antibiotiques antibactériens n'a pas présenté de levures du genre Candida au bout de trois semaines d'observation. Son état général étant nettement amélioré, il a été rendu à son propriétaire.

Observation n° 19.

Yannick, danois, femelle de 11 mois, appartenant à M. U..., 09 Tarascon (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Cette chienne souffre de staphylodémodécie depuis six mois. Elle reçoit tous les matins et tous les soirs une injection de Pénicilline-Kanamycine (1,5 M - 1 g).

— Le 16 janvier 1974, le prélèvement rectal, après ensemencement, nous donne beaucoup de germes et aucune levure.

— Le 24 janvier 1974, nos recherches sont toujours négatives.

— Le 30 janvier 1974, nous isolons 4 colonies de Pityrosporum dans l'ensemencement de l'écouvillonnage rectal.

— Le 6 février 1974, nous avons isolé à nouveau 10 colonies de Pityrosporum et trois colonies de levures du genre Candida dont les caractères auxanographiques et zymographiques correspondent à *C. pseudotropicalis.*

Le diagnostic immunologique a été toujours négatif.

Nous avons été surpris de trouver des Pityrosporum qui sont des levures lipophiles. Leur petit nombre ne signifie pas une infection. La chienne est redonnée à son

Chien malade N°	*1er prélèv.*	*2e prélèv.*	*3e prélèv.*	*4e prélèv.*	*5e prélèv.*	*6e prélèv.*	*7e prélèv.*	*Genre et espèces isolés*
CM 1	PN — PR — PC —	PN — PR — PC —	PN — PR 40 col. PC 14 col.	PN 90 col. PR 120 col. PC —				*C. albicans*
CM 2	PR — PR —	PC — PR —	PC 14	PC				Négatif
CM 3	PN — PR — PC —	PN — PR — PC —	PN — PR 14 PC —	PN 3 PR 28 PC —				*C. albicans*
CM 4	PN — PR — PC —	PN — PR — PC —						Négatif
CM 5	PN — PR — PC —	PN — PR 32 PC —						*C. albicans*
CM 6	PC — PR — PN —	PC — PR 40 PN —	PC — PR — PN —	PC — PR — PN —				*Saccharomyces*
CM 7	PN — PR — PC —	PN — PR 30 PC —						*C. krusei*
CM 8	PN — PR —	PN — PR —						Négatif

Chien malade N°	1er prélèv.	2e prélèv.	3e prélèv.	4e prélèv.	5e prélèv.	6e prélèv.	7e prélèv.	Genres et espèces isolés
CM 9	PC — PN — PR 2 PCA —	PC — PN — PR 2 PCA —	PC — PN 1 PR 55 PCA —	PC — PN — PR 37				*C. albicans*
CM 10	PN — PR —	PN — PR 80	PN — PR 130	PN — PR 70	PN — PR 60	PN — PR 50	PN — PR 55	*C. krusei*
CM 11	PR 60 C.K.	PR 80 C.K.	PR 30 C.K.	PR 45 C.K. PR 21 S.	PR 52 C.K. 17 S.	PR 47 C.K. 11 S.		*C. krusei* : C.K. *Saccharomyces* : S.
CM 12	PR 40 S.	PR 52 S. 6 P.	PR 72 S. 3 P.	PR 120 S. 11 P				*Saccharomyces* *Pityrosporum* : ?
CM 13	PR 15 S.	PR 32 S.	PR 53 S.	PR 8 S,				*Saccharomyces* *C. albicans*
CM 14	PR —	PR —	PR 20	PR 100				
CM 15	PR —	PR —	PR 16	PR 120				*C. albicans*
CM 16	PR 42	PR 50						*C. albicans*
CM 17	PR —	PR —	PR 1					*C. albicans*
CM 18	PR —	PR 30 S.	PR 14 S.					*Saccharomyces*
CM 19	PR —	PR —	PR 4 P.	PR 10 P.				*Pityrosporum*
CM 20	PR —	PR 80 C.K.	PR 14 C.K.	PR 50 C.K.				*C. krusei*

Légende : PN : prélèvement nasal
PR : prélèvement rectal
PCA : prélèvement conduit auditif
PC : prélèvement cutané

Résultats du diagnostic immunologique des chiens malades

Chien malade	*1er prélèv.*				*2e prélèv.*				*3e prélèv.*				*4e prélèv.*				*5e prélèv.*				*6e prélèv.*				*7e prélèv.*			
	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200	1/10	1/20	1/100	1/200
CM 1	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	(+)	—	—	++	++	(+)	—												
CM 2	—	—	—	—																								
CM 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	+	—	—												
CM 4	++	++	+	+	++	++	+	+																				
CM 5	—	—	—	—	—	—	—	—																				
CM 6	—	—	—	—	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—													
CM 7	—	—	—	—	+	+	—	—																				
CM 8	—	—	—	—	+	+	—	—																				
CM 9	+	—	—	—	+	+	(+)	—	++	++	++	++	++	++	++	++												
CM 10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		—	—	(+)	(+)	—	—	(+)	(+)	—	—	++	+	—	—
CM 11	—	—	—	—	+	(+)	—	—	+	(+)	—	—	+	(+)	—	—	++	+	—	—	++	+	—	—				
CM 12	—	—				—	—																					
CM 13				—	(+)	(+)	—		(+)	(+)	—	—	(+)	(+)	—	—												
CM 16	—	—				—	—		+	(+)																		
CM 17					—				+	(+)	—	—																
CM 18	—		—		—		—	—	(+)			—																
CM 19	—			—	—	—			—	—																		
CM 20		—		—	—				(+)	—		—	(+)	—	—	—	+	(+)	—	—								

Légende : Réaction très positive : ++
» positive : +
» légèrement positive : (+)
» négative : —

propriétaire étant donné son état général nettement amélioré.

Observation n° 20.

Black, bleu d'Auvergne, mâle âgé de 6 ans, appartenant à M^me^ F..., 31 Cugnaux (Hôpitaux, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

Ce chien est atteint de staphylococcie et tous les jours des injections intramusculaires de Pénicilline - Streptomycine (1 M - 1 g) sont effectuées.

— Le 16 janvier 1974, les prélèvements rectal et sanguin sont négatifs.

— Le 24 janvier, nous isolons une levure dans les fèces. Celle-ci est identifiée comme étant *C. krusei* (80 colonies).

— Le 30 janvier, nous retrouvons *C. krusei* avec 14 colonies sur l'ensemencement de l'écouvillonnage rectal.

Le diagnostic immunologique est légèrement positif au 1/10^e^, il en sera de même pour le prélèvement sanguin suivant.

— Le 6 février 1974, nous obtenons 50 colonies de la levure.

— Le 14 février 1974, le prélèvement rectal est toujours positif (30 colonies).

Le diagnostic immunologique est positif au 1/10^e^ et légèrement positif au 1/20^e^. L'animal est rendu à son propriétaire, sans amélioration de sa staphylococcie.

Nous avons été étonnés au cours de nos observations de trouver quelques cas de présence de *C. krusei*.

Le Pennec a mentionné dans une publication que, dans les viscères de Mammifères, *C. krusei* a une part aussi importante que *C. albicans* [20].

II. Recherche chez les chiens non traités par les antibiotiques

Parallèlement à nos observations sur les chiens soumis à antibiothérapie, nous avons recherché la présence de *C. albicans* chez 20 chiens témoins (CT) ne recevant pas de traitements antibiotiques antibactériens.

Nous avons effectué un prélèvement rectal sur chaque animal, ainsi qu'un prélèvement sanguin pour rechercher la présence d'anticorps anti-Candida.

Nous n'avons trouvé aucun *C. albicans*. Par contre, deux chiens : CT 11 et CT 12 présentaient des colonies de levures dont les caractères auxanographiques et zymologiques étaient ceux de *C. krusei*. Le nombre de colonies était respectivement 2 pour CT 11 et 30 pour CT 12.

Nous avons remarqué chez deux de nos animaux la présence de Pityrosporum en petit nombre. Les chiens CT 6 et CT 17 en étaient porteurs : 10 colonies pour le premier dans l'ensemencement du prélèvement rectal, et 15 colonies pour le deuxième.

Le diagnostic immunologique, dont les résultats sont consignés dans le tableau ci-après, nous montre de très faibles taux: au maximum une légère positivité est notée au 1/20e.

Trois fois, au cours des deux ans d'expérimentation, nous avons déposé dans les hôpitaux des boîtes de Pétri

Chiens témoins

N° *des chiens*	*Nom* *des chiens*	RESULTATS		
		Culture	RECHERCHE DES Ac PAR IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE	
			Dilution 1/10	*Dilution 1/20*
CT 1	Zizi	–	+	(+)
CT 2	Jules	—		
CT 3	Dick Caillou	Bacilles	++	(+)
CT 4	Campo			
CT 5	Miss			
CT 6	Tarzan	Bacilles + *Pityrosporum* (10 col.)		
CT 7	N° 78			–
CT 8	N° 62			—
CT 9	Tina		(+)	(+)
CT 10	Pipo		(+)	(+)
CT 11	Bled	Bacilles +, levures (2 col.), *C. krusei* (?)		–
CT 12	Lundi	Bacilles +, levures (30 col.), *C. krusei*(?)		
CT 13	Dick Limia		–	–
CT 14	Athos			–
CT 15	Dick Destrieg			—
CT 16	Pley		+¬	(+)
CT 17	Vendredi Treize	*Pityrosporum* (15 col.)		
CT 18	Flick Jarry		(+)	–
CT 19	N° 5		—	–
CT 20	N° 6		–	—

contenant de la gélose glucosée Sabouraud au Chloramphénicol. Nous n'avons jamais trouvé de levures du genre Candida dans l'air. L'infestation des organismes se fait sûrement à partir de Candida endogènes.

TROISIÈME PARTIE

DISCUSSION DES RÉSULTATS

CHAPITRE PREMIER

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Une discussion s'impose dès l'instant où l'on sait que les champignons sont pour la plupart d'entre eux des « opportunistes ».

Il convient de considérer les circonstances d'apparition, la signification pathologique des Candida isolés dans les prélèvements ainsi que les résultats du diagnostic immunologique.

I. Circonstances d'apparition

Au cours de nos observations, nous avons noté que les deux principaux facteurs, permettant une évolution des candidoses, étaient l'âge et l'état général de nos animaux.

A) *L'âge.*

Les animaux ayant présenté des candidoses graves étaient principalement des jeunes sujets qui étaient dans leur première année.

Les observations n^{os} 1, 3, 9, 14 et 15 nous le montrent. Les deux petits chiots nourris par leur mère, en 15 jours, ont fait une flambée de candidose, mais il semble que pour les trois premières observations (n^{os} 1, 3, 9) la cause favorisante soit le mauvais état général.

B) *L'état général.*

Nos trois animaux (CM 1, CM 3, CM 9) étaient atteints de staphylodémodécie ou staphylococcie très étendue.

Candida albicans y a trouvé un terrain de choix pour se développer.

Nous avons d'abord découvert de nombreuses levures dans les selles et ensuite dans les prélèvements nasal et cutané. En quinze jours, trois semaines, tous les prélèvements étaient positifs.

Nous avons trouvé des levures du genre Candida dès le premier prélèvement, sur une chienne (CM 16), mais elle avait déjà reçu un traitement à la Terramycine durant quinze jours avant son hospitalisation à l'Ecole Vétérinaire.

Nous constatons donc que la gravité de l'infection dépend surtout de la réceptivité de l'organisme. *Candida albicans* était toujours en cause.

Hormis deux cas typiques de muguet buccal (observations n^{os} 1 et 14), les aspects cliniques et lésionnels extérieurs étant discrets, nous avons eu recours au diagnostic de laboratoire.

II. Signification pathologique des Candida isolés dans les prélèvements

La valeur que l'on doit accorder aux Candida isolés

est fonction des éléments suivants: le nombre de colonies, l'espèce et l'origine du Candida isolé.

A) *Nombre* de colonies de Candida isolés des prélèvements.

Si le nombre est considérable, allant de plusieurs colonies par tube de culture à une nappe de colonies, la présence des Candida peut prendre une signification pathologique.

Si le nombre de colonies est réduit, c'est-à-dire ne dépasse pas une colonie par tube de Sabouraud, la signification est discutable.

De nos observations, il semble que, pour le prélèvement rectal, un nombre inférieur à 10 colonies ne corresponde pas à une action pathogène du Candida.

Entre 10 et 30 colonies, une suspicion est plausible. Au-delà de 40 colonies, l'action pathogène de *C. albicans* n'est pas à mettre en doute.

Pour le prélèvement nasal, nous pouvons constater qu'un petit nombre de colonies peut avoir une signification pathologique, car il correspond souvent à une généralisation de la candidose dans l'organisme. Il faut noter que pour *C. krusei* nous avons souvent trouvé un grand nombre de colonies dans les observations n^{os} 10, 11 et 20, sans manifestations pathologiques sur l'animal. L'état général était parfait quoique les animaux eussent des lésions cutanées étendues dues à la staphylodémodécie ou à la staphylococcie.

B) *Espèce et origine du Candida isolé.*

L'identification de *C. albicans* a une signification

pathologique plus grande que celle des autres espèces, c'est ce que nous pouvons conclure de nos observations.

Toutefois, les données épidémiologiques et la quantité des éléments fongiques trouvés dans le prélèvement nous orientent également.

La présence de *C. krusei*, même en grand nombre, dans les selles, ne prend pas une valeur pathologique.

Par contre, la présence de *C. albicans*, même en petit nombre, dans le prélèvement nasal, est très significative.

Nous concluons de nos observations que *C. albicans* semble pathogène pour l'organisme animal, les autres Candida vivent en saprophytes. Nous n'avons jamais trouvé *C. albicans* chez nos chiens témoins, seul *C. krusei* a été mentionné pour deux animaux. Dans les selles de ceux-ci, le nombre de colonies obtenues après ensemencement des écouvillonnages rectaux était très faible.

III. Résultats du diagnostic immunologique

En examinant les résultats de la recherche de *C. albicans* chez les chiens témoins non traités par les antibiotiques, on remarque qu'ils sont tous exempts de *C. albicans*.

Certains, cependant, présentent une légère positivité au 1/20e en ce qui concerne le diagnostic immunologique. Ces animaux avaient peut-être déjà eu une candidose ou présentaient un début de candidose profonde que nous n'avons pas décelé ou bien les résultats étaient faussement positifs.

Des observations chez les chiens soumis à antibiothérapie, nous concluons que le diagnostic mycologique est toujours positif avant le diagnostic immunologique, ce qui est normal.

Les résultats immunologiques de l'immunofluorescence basée sur la recherche des anticorps circulants sont décevants.

Or, le Candida a un pouvoir antigénique bien inférieur à son pouvoir allergisant et la recherche de l'hypersensibilité retardée permettant de mettre en évidence l'allergie, serait une méthode plus précise pour le diagnostic immunologique.

Nous avons constaté lors de candidoses graves (observations n^{os} 1 et 3) un diagnostic immunologique négatif alors que la présence des Candida était décelée depuis trois semaines.

Peut-être est-ce dû à un effondrement de l'immunité humorale (agammaglobulinémie) préexistante. Nous pouvons supposer également une déficience du système immunitaire occupé à combattre la maladie intercurrente (staphylococcie).

La recherche des anticorps par immunofluorescence indirecte n'est pas très spécifique, nous l'avons mentionnée plus haut. Il faut rappeler que ce diagnostic immunologique n'est positif que lors de candidoses profondes; or, nous n'avons eu que peu de cas dans nos observations.

CHAPITRE DEUXIÈME

CRITIQUES

Nous devons rappeler que notre but n'était pas de créer des candidoses expérimentales, mais de rechercher l'infection de *C. albicans* sur des chiens hospitalisés et traités

durant plusieurs semaines par des antibiotiques antibactériens.

Nous ne pouvons donner des statistiques sur le pourcentage d'apparition de candidoses, car le nombre d'animaux suivis est assez restreint. De même, dans plusieurs cas, nous n'avons pas suivi les variations de populations des Candida sur nos animaux car ils sont sortis des hôpitaux après un bref séjour (observations n^{os} 5, 6, 7, 16, 19 et 20).

Nous ne pouvons tirer de conclusions sur l'intervention particulière de tel ou tel antibiotique; très souvent la Pénicilline et la Streptomycine étaient utilisées sur ces animaux en raison de la réponse donnée par l'antibiogramme effectué sur le staphylocoque, agent de la maladie intercurrente.

Le Chloramphénicol et les Tétracyclines qui, selon Drouhet, sont les meilleurs antibiotiques pour créer des candidoses expérimentales, ont été très peu utilisés (observations n^{os} 2, 16).

Nous avons été surpris de trouver si peu d'infections à *C. albicans* au cours de nos observations.

En Médecine Humaine, depuis l'introduction des antibiotiques antibactériens, la fréquence des candidoses s'est accrue considérablement.

En Médecine Vétérinaire, celle-ci est plus faible et peut-être n'avons-nous pas décelé toutes les candidoses profondes car nous n'avons pas effectué d'hémocultures.

Lors d'aggravation de l'état général, il est difficile de noter quel est le responsable : le staphylocoque ou le Candida.

Nous avons, cependant, observé quelques cas de candidoses où l'antibiothérapie apparaît comme un facteur important et où le rôle de l'état général est intéressant.

Aussi bien pouvons-nous conseiller lors de traitements antibiotiques antibactériens de longue durée, l'utilisation simultanée d'antibiotiques antifongiques et administration de levures par voie buccale.

CONCLUSION

Sur vingt chiens examinés, nous avons reconnu sept cas de candidoses à *C. albicans.*

Il s'est agi essentiellement d'animaux très jeunes, dont l'état général était particulièrement altéré.

Les symptômes observés étaient très frustes et, dans tous les cas, nous avons eu recours au diagnostic de laboratoire pour préciser l'existence de la levure.

L'isolement des Candida par culture a permis d'identifier rapidement *C. albicans* par le test de Taschdjian et la recherche de la formation de chlamydospores sur le milieu P.C.B.

Le diagnostic sérologique par immunofluorescence indirecte ne semble pas être d'un grand secours, il faut reconnaître que la culture est le principal moyen de diagnostic de laboratoire.

C. albicans est responsable de la plupart des manifestations pathologiques, mais nous avons rencontré d'autres espèces : *C. krusei, C. pseudotropicalis.*

Nous insistons sur la signification pathogène du nombre de colonies de Candida isolés des prélèvements.

De ce travail, nous pouvons conclure que l'apparition des candidoses est conditionnée par l'âge, le terrain, les maladies intercurrentes et l'utilisation des antibiotiques antibactériens pendant plusieurs semaines.

Nous devons noter, cependant, que nous n'avons pas mis en évidence des Candida chez tous les malades observés.

Vu : *Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire,*

Rapporteur,

A. BRIZARD

Vu : *Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire,*

R. LAUTIÉ.

Vu : *Le Président de la Thèse,*

LARROUY

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 2 Octobre 1974

Le Président de l'Université Paul-Sabatier,

LARENG.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.

Première partie.

GÉNÉRALITÉS, BIOLOGIE DES CANDIDA, LES CANDIDOSES. 19

Chapitre premier.

Définition et position systématique des Candida.

- Définition. 19
- Classification générale des champignons. . . . 20
- Position systématique des Candida dans la classe des Hyphomycètes. 22

Chapitre II.

Etude générale des Candida.

I Caractères morphologiques. 27
A) Dans les lésions. 27
B) Dans les cultures. 28
II. Caractères physiologiques. 34
A) Auxanogramme. 35
B) Fermentation des sucres. 37
C) La sensibilité à l'actidione. 40
D) La réduction du tétrazolium. 40
E) Hydrolyse de l'urée. 41
F) Hydrolyse de l'arbutine. 41
III. Caractères antigéniques. 44

Chapitre III.

Les Candidoses.

I. Les conditions d'apparition. 47
A) Les sources d'infection. 47
B) Les facteurs favorisants. 48
II. Les aspects cliniques et lésionnels.
A) En médecine humaine. 54
B) En médecine vétérinaire. 55
III. Le diagnostic. 61
A) Recherches des conditions d'apparition 61
B) Diagnostic clinique et anatomopathologique.
C) Diagnostic expérimental.

Deuxième partie.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.

Chapitre premier.

Choix des animaux et des prélèvements 75
I. Animaux utilisés 75
II. Prélèvements 76

Chapitre II.

Techniques retenues pour la recherche de Candida albicans.

I. Isolement 79
II. Purification des souches 80
III. Identification de *C. albicans* 81
A) Test de Taschdjian 82
B) La formation des chlamydospores 82
IV. Identification des levures du genre Candida. 83
A) La sensibilité à l'actidione 83
B) Le zymoauxanogramme 84
V. Diagnostic immunologique 85
- Technique de la réaction 86

Chapitre III.

Recherche systématique des Candida.

I. Recherche en clinique chez des chiens soumis à antibiothérapie 91
II. Recherche chez des chiens non traités par les antibiotiques 110

Troisième partie.

DISCUSSION ET RÉSULTATS.

Chapitre premier.

Discussion et résultats 115
I. Circonstances d'apparition 115
- L'âge 115
- L'état général 116
II. Signification pathologique des Candida isolés dans les prélèvements 116
- Nombre 117
- Espèce et origine du Candida isolé 117
III. Résultats du diagnostic immunologique ... 118

Chapitre II.

Critiques 119
CONCLUSION 123
TABLE DES MATIÈRES 125
BIBLIOGRAPHIE 127

BIBLIOGRAPHIE

[1] Ansel (M.). — Mycoses iatrogènes. *Panorama Médical*, 1972, n° 27, Squibb.

[2] Biguet (J.), Tran Van Ky (P.) et Andrieu (S.). — Etude électrophorétique et immunochimique comparée des antigènes de quelques levures du genre Candida. *Mycopath. et Mycol. Appl.*, 1962, *17*, 239-254.

[3] Black (H.). — Tétracyclines et Candidoses. *New. Zealand Med. J.*, 1968, *32*, 36.

[4] Brown-Thomsen (J.). — Variability in Candida albicans (Robin) Berkhout. *Hereditas*, 1968, *60*, 350-358.

[5] Coudert (J.). — *Guide pratique de mycologie médicale*. Masson et Cie, Ed., 1955.

[6] Diddens (H.A.) et Lodder (J.). — Die anaskosporogenen Hefen. 11 Hälfte, A'dam, 1942.

[7] Drouhet (E.). — Biologie générale et physiopathologie des mycoses. *Rev. Prat.*, 1968, *19*, 18, 2823-2840.

[8] Drouhet (E.). — *Les candidoses et leur diagnostic de laboratoire*. Labor. Squibb, Ed. 1965.

[9] Drouhet (E.) et Couteau (M.). — Facteurs vitaminiques de croissance des Candida. *C. R. Acad. Sc.*, 1954, *239*, 1675-1682.

[10] Drouhet (E.) et Vieu (M.). — Biologie des infections à Candida. I. Diagnostic de laboratoire. *Sem. Hôp. Paris*, 1957, *33*, 793-806.

[11] Euzéby (J.). — *Cours de mycologie médicale comparée*. Vigot Frères, Ed., 1969.

[12] Golvan (Y.J.), Drouhet (E.). — *Techniques en parasitologie et en mycologie.* Flammarion, Ed. (Médecine, Sciences), 1972.

[13] Graciansky (de P.) et Delaporte (J.). — *Accidents à levures des traitements par les antibiotiques.* Masson et Cie, Ed., 1956.

[14] Hache (J.). — Les candidoses aviaires. *Thèse Doct. Vét.*, Alfort, 1966.

[15] Hasenclever (H.P.) et Mitchell (W.O.). — Antigenic studies of Candida. I. Observation of two antigenic groups in Candida albicans. *J. Bact.*, 1961, *82*, 570-573.

[16] Jolivet (G.). — Candida infections in animals. *Cah. Méd. Vét.*, 1968, *37*, 4, 127-139.

[17] Lange (F.C.), Pevny (I.) et Staib (F.). — Das Candida Granulom und seine Behandlung bei gleichzeitiger Staphylokokkeninfektion. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1967, *92*, 192-198.

[18] Langeron (M.) et Guerra (P.). — *Ann. Parasitol.*, 1938, *16*, 36-47.

[19] Le Fichoux (Y.). — Les mycoses induites par les thérapeutiques modernes. *Vie Méd.*, 1969, *30*, 4, 3629-3632.

[20] Le Pennec (J.). — A propos de 502 souches de levures blastosporées blanches isolées ou identifiées au laboratoire vétérinaire départemental de la Vendée. *Soc. Vét. Prat. France*, 1970, *54*, 583-589.

[21] Le Pennec (J.). — De Candida albicans du jabot des oiseaux. *Soc. Vét. Prat. France*, 1972, *45*, 211-217.

[22] Lodder (J.). — Die anaskosporogenen Hefen. 1 Hälfte Verhandel, Koninkl. *Akad. Wetenschap. Aft. Natuurkunde*, sect. II, 1934, *32*, 1-15.

[23] Lodder (J.). — *The Yeasts. A taxonomic study.* North Holland Publish. Cy. ed., 1971.

[24] Lodder (J.) et Kreger Van Rij (N.J.W.). — *The Yeasts*. A'dam, 1952.

[25] Marcelou-Kinti (U.) et Vournous (M.). — Méthode simple pour l'étude du pouvoir fermentatif des Candida. *Arch. Inst. Pasteur hell.*, 1961, *7*, 163-166.

[26] Mazaud (P.). — Les mycoses digestives. *Feuillets Méd.*, 1971, *171*, 1-11.

[27] Morquer (R.), Puget (E.) et Bazex (A.). — Sur un nouvel agent de blastomycose chez le chien. *C. R. Acad. Sc.*, 1953, *236*, 546-562.

— Blastomycose du chien (C. pseudotumoralis) : anatomie et étiologie. *Rev. Méd. Vét.*, 1954, *105*, 783-800.

— Une nouvelle levure pathogène, C. pseudotumoralis, étude systématique et physiologique. *Rev. Mycol.*, 1954, *19*, 63-84.

[28] Nickerson (W.J.) et Mankowski (Z.). — A polysaccharide medium of known composition favoring chlamydospore formation in Candida albicans. *J. Infect. Dis.*, 1953, *92*, 20-25.

[29] Pagano (J.), Levin (J.D.) et Trejo (W.). — Diagnostic medium for differentiation of species of Candida. *Antibiotics Ann.*, 1958, *6*, 137-148.

[30] Pavlatou (M.) et Marcelou (U.). — Milieu favorisant la formation de chlamydospores de Candida albicans. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, *91*, 410-413.

[31] Rentchnick (P.). — Les accidents de la thérapeutique antibiotique. *Méd. et Hyg.*, 1963, *21*, 193-197, 248-252.

[32] Rimbaud (P.), Haran (H.), Bessière (C.), Rioux (J.A.), Bastide (J.M.). — La sérologie au cours des candidoses. *Bull. Soc. Fr. Dermat. et Syph.*, 1960, *67*, 673-684.

[33] Saëz (H.). — Quelques caractéristiques physiomorphologiques de C. albicans et incidence du facteur température sur les levures. *Ann. Méd. Vét.*, 1966, *6*, 448-458.

[34] Saëz (H.). — Considérations sur les levures isolées du poumon des mammifères. *Rec. Méd. Vét.*, 1968, 52-59.

[35] Saëz (H.). — Candidose des premières voies digestives, pseudocandidoses et levures hôtes du paon. *Animal de compagnie*, 1974, *3*, 259-272.

[36] Saëz (H.), Despeignes (J.), Battesti (M.R.) et Rinjard (J.). — Recherche immunologique chez l'animal. *Economie et Médecines Animales*, 1972, 13, *5*, 289-298.

[37] Segretain (G.), Drouhet (E.) et Mariat (F.). — *Le diagnostic de laboratoire en mycologie médicale*. La Tourelle Ed., 2e éd., 1964.

[38] Stelling-Dekker (N.M.). — Die sporogenen Hefen. *Verhandel Koninkl. Akad. Wetenschap. Aft. Natuurkunde*, sect. II, 1931, *28*, 1-16.

[39] Summers (D.F.), Grollman (A.P.) et Hasenclever (H.F.). — Polysaccharide antigens of Candida cell wall. *J. Immun.*, 1964, *92*, 491-499.

[40] Talice (R.V.). — *Ann. Parasitol.*, 1930, *8*, 394-399.

[41] Taschdjian (C.L.), Burchall (J.J.) et Kozinn (P.J.). — Rapid identification of Candida albicans by filamentation on serum and serum substitutes. *J. Dis. Child.*, 1960, *99*, 212-215.

[42] Taschdjian (C.L.), Kozinn (P.J.), Cuesta (M.B.) et Toni (E.F.). — Serodiagnosis of Candida infections. *Amer. J. Clin. Path.*, 1972, 2.

[43] Thibaut (M.). — *Les maladies par allergie mycosique*. Arnette Ed., 1963, 233 p.

[44] Tsuchiya (T.), Fukazawa (Y.) et Kawarita (S.). — A method for the rapid identification of the genus Candida. *Mycopath. Mycol. Appl.*, 1959, *10*, 190-212.

[45] Van Breuseghem (R.). — *Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire*. Masson et Cie Ed., 1966.

[46] Vogel (R.A.) et Padulh (J.F.). — Indirect staining reaction with fluorescent antibody for detection of antibodies to pathogenic fungi. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958, *98*, 135-139.

[47] Waldmann (A.). — Candidoses digestives. *Panorama Médical*, Squibb Ed., 1971, *19*.